UNIVERSITY OF HAWAII LIBRARY JAN 25 '51

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. VII. – Fasc. 5 15. V. 1951 Fr. 3.–

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

L. EMBERGER: L'origine de la fleur 161
S. RANZI: The Proteins in the Cells and in Embryonic Development 169

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

M. HALFAWY: On the Theory of Electrolytic Polishing 175
M. S. GIBSON: Diterpenes; Preliminary Synthetical Experiments 176
M. A. ROULET: Isolement d'une nouvelle souche de *Phycomyces*. Etude de ses caractéristiques morphologiques et de ses besoins en facteurs de croissance 177
E. BÖSIGER: Isolement sexuel entre deux souches de *Drosophila melanogaster* 178
B. I. BALINSKY: On the Eye Cup-Lens Correlation in some South African Amphibians 180
E. KUPKA: Veränderungen der Kerngrößen bei Molchlarven nach Amputation und Narkose 181
M. V. BRIAN: Caste Determination in a Myrmicine Ant. 182
D. KRITCHEVSKY and I. GRAY: Biosynthesis of Cholesterol from Isobutyrate 183
E. WALDSCHMIDT-LEITZ, K. KÜHN und FR. ZINNERT: Zur Bausteinanalyse des Clupeins 183
H. DAM, INGE PRANGE, and E. SONDERGAARD: Similar Effects of Methylene Blue and of Vitamin E on Liver Storage of Vitamin A in Chicks 184
H. MÜSSBICHLER: Über biologische Wirkungen von Acridinderivaten 185
O. SPÜHLER, H. U. ZOLLINGER, M. ENDERLIN und H. WIPF: Die Beeinflussung der Masugi-Nephritis durch Cortison 186
P. DESAULLES, W. SCHULER und R. MEIER: Unabhängigkeit der Bildung des Fremdkörpergranuloms und seiner Beeinflussung durch Compound E von der Hypophyse 188
W. HILD und G. ZETLER: Über das Vorkommen der drei sogenannten «Hypophysenhinterlappenhormone» Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin im Zwischenhirn als wahrscheinlicher Ausdruck einer neurosekretorischen Leistung der Ganglienzellen der *Nuclei supraopticus* und *paraventricularis* 189
V. ERSPAMER and A. OTTOLENGHI: Preliminary Researches on the Mechanism of the Antidiuretic Action of Enteramine 191
P. HOLTZ und H. J. SCHÜRMANN: Adrenalin- und Arterenolgehalt der Mäuse- und Rattennebenniere 192
P. HAUDUROY: Le «Séparateur de germes» (Pro Laboratorio) 193

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Handbuch der Gletscherkunde und Glazialgeologie, Bd. I und II. Von Rudolf von Klebelsberg (Springer-Verlag, Wien 1948/1949) (Ref. H. Annaheim) 194

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: L. H. LONG: The Valence-State Energy of the Tetravalent Carbon Atom 195
Nota 200

EXPERIENTIA

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher*, durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi,* in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni,* come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings,* as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.–. Abonnement pour un an fr. 28.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la darution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant

Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à par. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.—, im Ausland sFr. 34.—; die Einzelnummer kostet Fr. 3.–.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d.h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 200.—, $^1/_2$ Seite Fr. 120.— $^1/_4$ Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.–. L'abbonamento annuo è di fr. 28.— per la Svizzera; all'estero fr. 34.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 200.—, $^1/_2$ pag. fr. 120.—, $^1/_4$ pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.–, by annual subscription by inland-mail fr. 28.—; other countries fr. 34.—. Prices in Swiss currency.

All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia VII/5

CIBA AG., Basel
Birkhäuser AG., Basel
Sauter AG., Basel
Kern & Co. AG., Aarau
Cilag AG., Schaffhausen
Ganz & Co., Zürich
Steiner & Co., Basel

Zeitschrift für angewandte Mathematik und Physik

Journal of Applied Mathematics and Physics
Journal de Mathématiques et Physique appliquées
ZAMP

Editores: J. ACKERET, E. BAUMANN, P. NIGGLI, P. SCHERRER, E. STIEFEL, F. STÜSSI, H. ZIEGLER.
Redaktor: R. SÄNGER

Inhalt von Nr. II/3 (15. 5. 51):

Zusammenfassende Berichte: N. SCHAETTI: Sekundärelektronenvervielfacher. – *Originalarbeiten:* W. GLASER und O. BERGMANN: Über die Tragweite der Begriffe «Brennpunkt» und «Brennweite» in der Elektronenoptik und die starken Elektronenlinsen mit Newtonscher Abbildungsgleichung. – W. MEYER ZUR CAPELLEN: Über die Koppelkurven des Zwillingskurbeltriebes. – *Kurze Mitteilungen:* N. ROTT: Über die Wirksamkeit von Flügelendklappen. – K. EMDEN: Eine Lösung für $\int e^{b(x+a\cos x)}\,dx$. – *Varia:* Bericht über die IX. Generalversammlung der Union Radioscientifique Internationale (URSI) in Zürich (E. Baldinger). – Voranzeige der Tagung «International Congress of the International Union of Crystallography» (P. NIGGLI). – Professor von Karman – siebzigjährig (J. ACKERET). – *Buchbesprechungen.*

Jahresabonnement (6 Nummern): Inland Fr. 28.–, Ausland Fr. 34.–, Einzelnummer Fr. 6.–
Annual subscription (6 issues): Switzerland Fr. 28.–, other countries Fr. 34.–, single copy Fr. 6.–
Abonnement annuel (6 numéros): Suisse Fr. 28.–, étranger Fr. 34.–, le numéro Fr. 6.–.

Verlangen Sie bitte auf Grund dieses Inserates eine Gratis-Probenummer

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL / SCHWEIZ

ELEMENTE DER MATHEMATIK

Revue de mathématiques élémentaires
Rivista di matematica elementare
Zeitschrift zur Pflege der Mathematik und zur Förderung des mathematisch-physikalischen Unterrichts

Organ für den Verein Schweizerischer Mathematiklehrer

Die Zeitschrift hat in ihrem Arbeitsbereich Abhandlungen aus allen Gebieten der reinen und angewandten Mathematik, der mathematischen Physik und der Geschichte der Mathematik aufgenommen, die für ein breiteres Publikum von allgemeinem Interesse sind. Sie versucht, durch Forschungsberichte und Literaturübersichten die Verbindung zwischen der Schulmathematik und der wissenschaftlichen Forschung aufrechtzuerhalten. Die zahlreichen Aufgaben, für die eine besondere Rubrik reserviert wurde, sollen dem Lehrer mannigfache Hinweise für den Unterricht geben.

Abonnementspreis für jährlich 6 Hefte im Umfang von je 24 Seiten Fr. 7.– (Ausland Fr. 10.–)
Einzelnummer Fr. 1.80

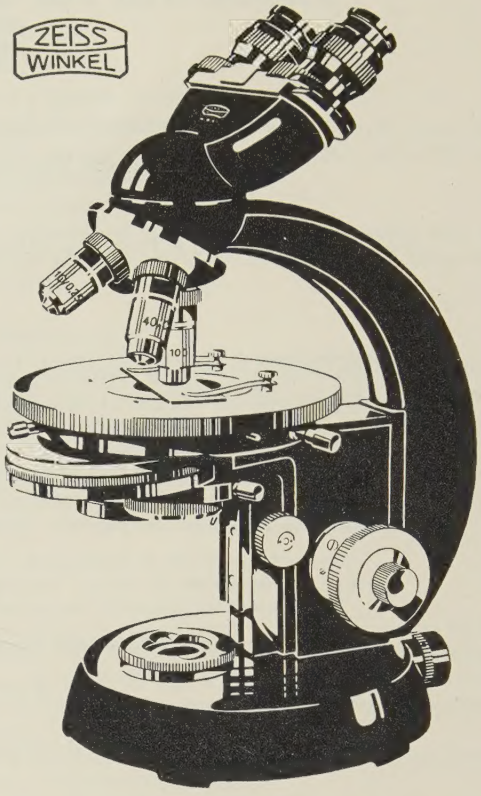
Abonnementsbestellungen durch jede Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER AG.
BASEL (SCHWEIZ)

NEUES **ZEISS**-WINKEL
STANDARD-MIKROSKOP GF 524

Das Ergebnis einer hundertjährigen Tradition !

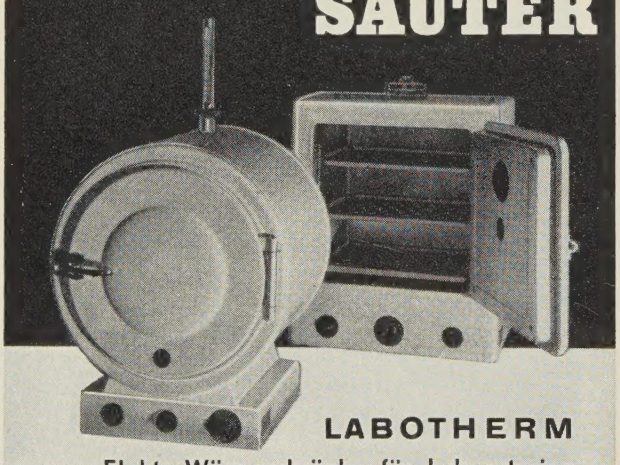
- Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhler'sches Prinzip)
- Tiefliegende, koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung
- Neuartiger Gleittisch (Fettfriktion)
- Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive
- Vergrösserungswechsler für die Okulare (ohne Okularwechsel)
- Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor
- Hervorragende Optik



Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:

GANZ & Co
Bahnhofstrasse 40
Tel. (051) 23 97 73
Zürich

SAUTER



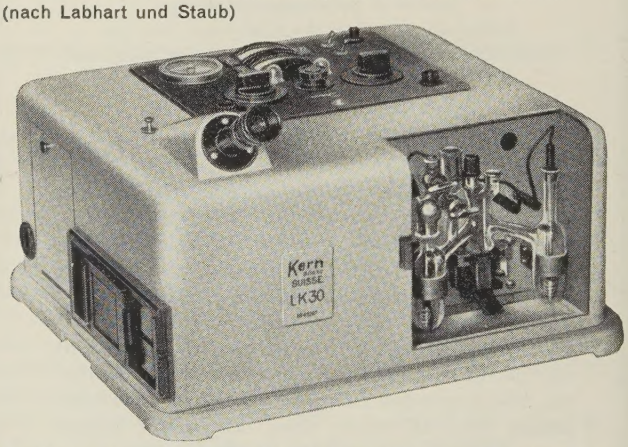
LABOTHERM
Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

Prüfschränke für Farben und Lacke
Härteprüfung von Kunststoffen
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehalt-prüfungen, Vorwärmung u.s.w.
Trockenschränke, Sterilisatoren
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL

Mikro-Elektrophoreseapparat Kern LK 30

mit interferometrischer Ausmessung der Konzentrationsstufen (nach Labhart und Staub)



Benötigte Lösungsmenge 0,4 cm³. Genauigkeit ca. 2,5% bei 1%iger Lösung. Spiegelreflex-Kamera, automatische Bildnumerierung, kein Thermostat, sofortige Betriebsbereitschaft, Spezialzelle für Diffusionsversuche. Maße: 40 x 46 x 28 cm; Gewicht: 24 kg.
Anwendungen: Serum und Plasma, Rückenmarksliquor, Organ-Eiweiße, Fermente, Immunisierungsvorgänge, Chemie der Hochmolekularen usw. - Prospekt Med. 505/2 auf Verlangen.

Kern & Co. AG., Aarau
Werkstätten für Präzisions-Mechanik und Optik
Gegründet 1819 Telephon (064) 2 11 12

Kern AARAU

EXPERIENTIA

Vol. VII - Fasc. 5 Pag. 161–200 15. V. 1951

L'origine de la fleur[1]

Par L. EMBERGER[2], Montpellier

Il y a mille manières de parler de la fleur. La fleur est un sujet inépuisable. Son étude a tenté toutes sortes d'intelligences, même celle de mathématiciens, frappés de l'admirable ordonnance des pièces florales ou de la régularité de certains phénomènes dont elle est le siège. C'est en historien que je voudrais l'examiner ici, étudier d'où elle vient, ce qu'elle est, et deviner, enfin, sa destinée dans les temps futurs. Je ne pourrai, naturellement, qu'effleurer un tel sujet, mais les quelques pages qui vont suivre suffiront, je l'espère, à en montrer l'intérêt et la grandeur.

*

Les botanistes ont toujours été frappés de l'éclosion brutale des Angiospermes, à la fin des temps secondaires, exactement à l'orée du Crétacé. Jusque là, le monde végétal ne comprenait que des Thallophytes, des Cryptogames vasculaires, des Préphanérogames (Ginkgoales et Cycadales[3]), et des Gymnospermes. Peu à peu, ce monde déclina, cédant un jour, presque subitement, la place aux Angiospermes. Vraisemblablement, les plantes à fleurs sont-elles plus anciennes que le Crétacé, mais il est certain qu'elles ont conquis le monde seulement au début de cette ère, et alors avec une rapidité extraordinaire, comparable à une explosion universelle. Si leur existence était un jour prouvée avant cette époque, elles y étaient très rares, isolées, noyées dans la foule des autres végétaux et notamment des Gymnospermes[4].

Mais il est encore plus intéressant de constater que les Angiospermes, dès leur apparition, étaient d'emblée très variées: les botanistes, parmi les types encore vivants, ont déterminé avec certitude une foule de plantes, des Casuarinacées, Chênes, Saules, Peupliers, Ormes, Platanes, Aristoloches, *Magnolia*, Lauracées, Nymphæacées, Sterculiacées, Sapindacées, Diptérocarpacées, Méliacées, Araliacées, Ombellifères, Sparganiacées, Alismacées... Très rapidement, nous voyons apparaître des Légumineuses, Rhamnacées, Myrtacées, Ericacées, Myrsinacées, Ebénacées, Borraginacées, Caprifoliacées, Liliacées, etc.

Cette flore tranche si nettement sur celle qu'elle a remplacée qu'elle paraît sans lien génétique avec elle. Quelle différence, en effet, entre un Sapin et un *Magnolia*, entre un *Ginkgo* ou un *Cycas* et une Ombellifère! Le fossé paraît infranchissable.

Cette révolution de la fin des temps secondaires n'est cependant pas la seule qu'ait connue le règne végétal. Une autre, moins spectaculaire, parce que plus éloignée de nous, mais aussi sensationnelle pour le biologiste, eut lieu au Dévonien.

Quand on étudie la flore de cette époque[1] on constate, avec étonnement, qu'à cette date lointaine les formes des végétaux vasculaires, jusqu'alors plus ou moins indécises et thalloïdes, se sont fixées définitivement. Certes, ces formes se sont prodigieusement modifiées au cours des temps, mais l'architecture fondamentale, le *thème*, sur lequel la nature composera d'innombrables variations, était constitué. Les organes fondamentaux, *tige*, *racine*, *feuille*, existaient. *Etamine* et *ovule*, conquêtes les plus modernes de la phylogénèse, ont vu le jour au Dévonien. Depuis cette époque, la nature n'a plus rien inventé d'*essentiel*.

L'apparition de l'ovule a été un événement phylogénétique immense, et les plantes à ovules, aussitôt apparues, se sont multipliées et diversifiées intensément, car elles formaient, déjà pendant le Carbonifère, sous forme de Ptéridospermes et de Cordaïtes, une grande partie du matériel qui devait devenir houille.

Il y a, entre ce nouveau type, à ovule, apparu au Dévonien, et les végétaux antérieurs un abîme *apparent* aussi profond qu'entre une Angiosperme et un Conifère.

Dévonien et Eocrétacé sont donc bien les deux grandes dates de l'histoire des plantes supérieures. Ils sont aussi les époques fondamentales de la genèse de la fleur. La notion de fleur est, en effet, dans les milieux non spécialement initiés, solidaire de l'existence de l'étamine, de l'ovule et de l'angiospermie.

*

Ce seul fait de l'échelonnement dans le temps des étapes morphologiques ayant abouti à la fleur actuelle sur une période qu'on peut estimer, d'après les mesures radiologiques, à 200 millions d'années environ, prouve que cet organe n'a pas fait une apparition subite. La fleur de nos jours est le terme *actuel* de l'organisation de l'appareil reproducteur, lequel a subi, comme tous les organes au cours des temps, de lentes, mais continuelles et inéluctables transformations.

[1] Cet exposé est la conférence faite par l'auteur à l'Université de Neuchâtel à l'occasion du *Dies academicus* du 9 juin 1950. Il a été simplement adapté pour en faire un article écrit.

[2] Institut de Botanique, Université de Montpellier.

[3] L. EMBERGER, *Les Préphanérogames*, Ann. Sci. nat. bot. [11e série], *10*, 131 (1949).

[4] Voir à ce sujet, L. EMBERGER, *Les Plantes Fossiles et leurs rapports avec les végétaux vivants* (Masson, Paris 1944).

[1] Pour une vue d'ensemble de la flore dévonienne, voir L. EMBERGER, *loc. cit.*

Pour comprendre ce mécanisme, il faut se rappeler un certain nombre de notions fondamentales:

1° D'abord sur la structure de l'étamine et de l'ovule (fig. 1): une *étamine* d'Angiosperme est formée de 4 sporanges unis en une «anthère»; elle porte les spores ♂ ou «grains de pollen». Un *ovule* est un sporange contenant les spores ♀. Ce sporange est appelé «nucelle»; il est enveloppé d'une ou de deux enveloppes, les téguments ovulaires[1].

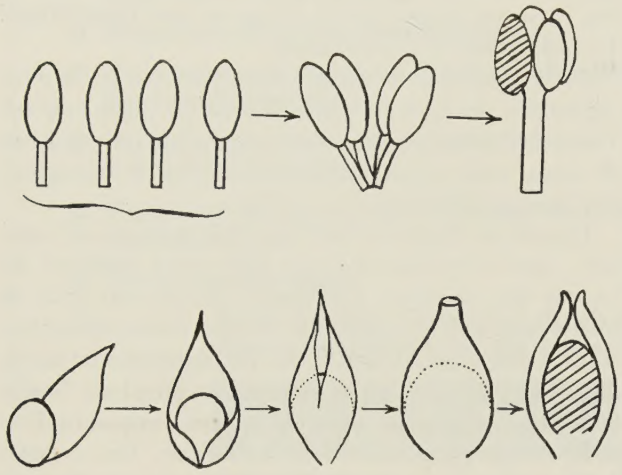


Fig. 1. Nature morphologique de l'étamine (en haut) et de l'ovule (en bas). Les parties hachurées sont homologues. (Pour l'ovule, on a pris le cas le plus simple.)

2° Ensuite il faut se souvenir que le sac pollinique et le nucelle de l'ovule sont strictement homologues, équivalents; une étamine est donc un ensemble de 4 sporanges profondément unis. Le nucelle de l'ovule n'est qu'un quart d'anthère. La figure 1 désigne les organes homologues par les rayures. Ces homologies ont été nettement définies encore récemment par les belles recherches d'HAGERUP[2].

Or, chez les végétaux vasculaires dévoniens, qui sont les plus archaïques, l'appareil reproducteur était dispersé. Il était un buisson dichotomique dont certains rameaux étaient sporifères. La figure 2*a* représente le type *Asteroxylon*. Quatre de ses sporanges solitaires équivalent à une étamine. En d'autres termes, quatre de ces sporanges représentent une étamine dont les sporanges, *au lieu d'être unis en une anthère, seraient distincts, libres.*

Est-ce une hypothèse? Non. Regardons autour de nous. L'étamine des Bouleaux, Noisetiers, *Sebastiania*, etc., est bifide, les sporanges y étant groupés 2 à 2; celle du Colatier ou Arbre à Cola (*Cola acuminata*) a même les quatre loges polliniques indépendantes... De plus, en contre-partie, on peut constater parfois, chez les végétaux dévoniens eux-mêmes, le rapprochement et l'union des sporanges 2 par 2. Il est donc juste de considérer 4 sporanges dispersés du type d'*Asteroxylon* de la fig. 2*a*, comme équivalents à une étamine.

Que s'est-il passé? Les figures suivantes (fig. 2*b–e*) vont nous le montrer. Les dichotomies fertiles primitives du type *Asteroxylon* ont été soumises à trois traitements: 1° à des *contractions morphologiques*, c'est-à-dire que certains articles de la ramification ont été supprimés, 2° à des *concrescences* entre sporanges, 3° à des *modifications anatomiques* au cours desquelles la structure caulinaire a été *remplacée par une structure foliaire.*

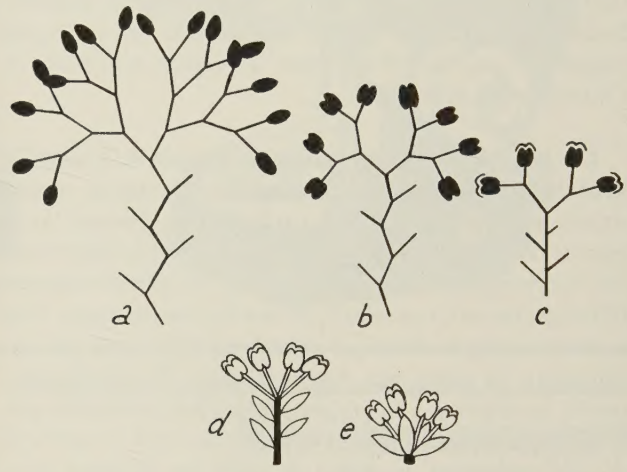


Fig. 2. Origine d'une fleur ♂ du type Angiosperme. *a:* appareil sporangifère dispersé du type *Asteroxylon*; *b:* union des sporanges 2 à 2 et réduction, par contraction, de la ramification; *c:* état plus avancé que sous *b;* les sporanges sont mis 4 à 4; *d:* polarisation et contraction de la forme *c;* seul l'axe principal est encore caulinaire; le reste est foliaire; *e:* la fleur est réalisée; l'axe est très contracté et est devenu réceptacle.

Retenons bien ce trinôme phylogénétique: *contractions, concrescences* et *foliarisation*. Il est l'instrument de toute la phylogénèse; il est comme la mélodie fondamentale d'un thème aux innombrables variations. Les exemples qui le montrent surabondent; nous en rencontrerons encore au cours de cet exposé.

Si, à la lumière de ces faits, nous examinons l'appareil reproducteur du type *Asteroxylon* (fig. 2*a*), nous constaterons que des contractions successives et des concrescences aboutiront d'abord à la forme représentée en *b*, puis à celles de *c*, *d* et *e*, mais à partir d'un certain moment (*d*), la foliarisation intervient. La fleur du *type* Angiosperme est ainsi née. Il s'agit dans la figure d'une fleur ♂, mais les organes ♀ n'ont pas une autre origine. Il serait facile de compléter la figure 2 par un schéma conduisant à une fleur avec périanthe. Enfin, la combinaison des deux schémas donnerait la fleur ☿.

*

Ces schémas ne sont pas imaginaires.

[1] La figure représente intentionnellement, surtout pour l'ovule, les cas les plus simples. Nous ne pouvons pas étudier ici les cas plus complexes. Indiquons seulement que *le* ou *les* téguments de l'ovule peuvent aussi être homologues d'un involucre de feuilles ou microsporanges stériles (voir à ce sujet: MARG. BENSON, *Heterotheca Grievii, The microsporangium of Heterangium Grievii*, Bot. Gaz. *74*, 120 (1922). – M. CHADEFAUD, *L'origine et l'évolution de l'ovule des Phanérogames*, Rev. scient. 502 (1946).

[2] O. HAGERUP, *Zur Organogenie und Phylogenie der Koniferenzapfen*, Det. Kgl. Danske Videnskab. Selskab., Biol. Medd., X, *7*, 1 (1933).

Examinons, par exemple, avec HAGERUP[1] la structure du cône ou «baie» des Genévriers (fig. 3*c–f*):

La figure 3*c* représente le cône de *Juniperus Sabina:* à la base de l'axe se trouvent quelques bractées stériles auxquelles succèdent celles axillant des petits rameaux ovulifères, puis, au sommet, encore des bractées stériles.

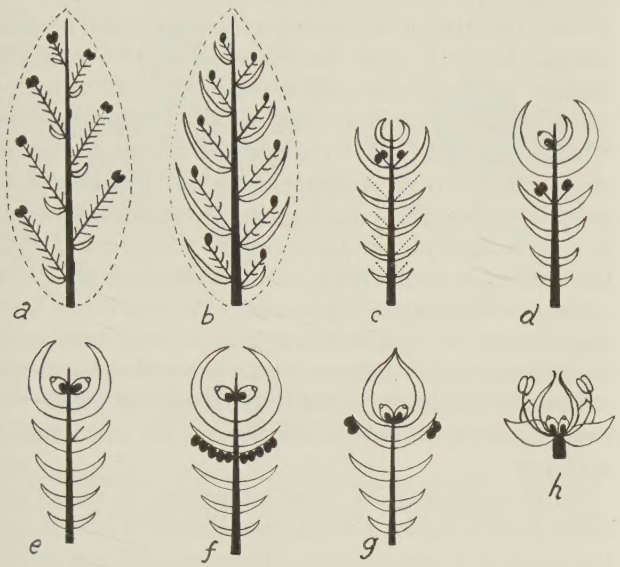


Fig. 3. Des Cordaïtes paléozoïques aux Angiospermes. *a:* Organisation du chaton ♀ des Cordaïtes; *b:* organisation du cône ♀ des *Lebachia* (Conifère anthracolithique); *c:* organisation du cône ♀ de *Juniperus Sabina; d:* organisation du cône ♀ de *Juniperus chinensis; e:* organisation du cône ♀ de *Juniperus communis* (normal); *f:* organisation du cône ♀ de *Juniperus communis* (anormal, ☿); *g:* fleur d'Angiosperme ☿, nue, issue de *f; h:* fleur d'Angiosperme classique à périanthe simple. (Inspiré par les travaux de FLORIN et d'HAGERUP.)

En *d*, représentant le cône de *J. chinensis*, la structure est la même, mais une des bractées apicales est fertile.

Chez le Genévrier commun (*J. communis*) (*e*), enfin, la fonction sporogène incombe entièrement aux bractées du sommet. Dans cette espèce, la fonction reproductrice, dévolue, chez la Sabine (*c*), à des axes secondaires, est transférée ici à l'axe principal. De tels transferts ne sont pas rares. Un autre bel exemple a été découvert, chez les Gymnospermes, par R. NOZERAN chez les Céphalotaxacées[2]. Quoiqu'il en soit, l'essentiel est de constater qu'à une structure ramifiée succède phylogénétiquement une structure simple en d'autres termes, à une *inflorescence* succède une *organisation florale* au sens habituel de la définition.

La figure 3*f* représente un cône anormal, ☿, avec étamines, du Genévrier commun; certaines bractées du cône sont devenues fertiles, ♂. Nous ne sommes maintenant pas loin de la fleur ☿ typique des Angiospermes: il suffit que les bractées formant la «columelle» et situées au-dessous des ovules se rabattent sur eux et que l'axe se contracte davantage. C'est ce que montrent les figures *g* et *h*.

[1] O. HAGERUP, *loc. cit.*

[2] R. NOZERAN, *L'inflorescence mâle des Cephalotaxus*, Rec. Trav. Inst. bot. Montpellier, 4° fasc., 1950.

Or, la structure du cône de la Sabine (fig. 3*c*) dérive directement de l'organisation de celui des Conifères paléozoïques (*Lebachia*) (fig. 3*b*), qui diffère par des axes secondaires ovulifères beaucoup plus feuillés et naissant à l'aisselle de presque *toutes* les bractées. Ces cônes des Conifères les plus anciens sont parfaitement connus, grâce aux magnifiques travaux de R. FLORIN[1]. La comparaison des figures *b* et *c* est suggestive.

Enfin, le cône des *Lebachia* a son origine dans les chatons de Cordaïtes (fig. 3*a*). Ces derniers se distinguent par des bractées de petite taille axillant des axes secondaires ovulifères *très* feuillés, dépassant beaucoup les bractées axillantes[2].

Nous saisissons ici, dans l'ensemble des schémas de la fig. 3, tous les termes de passage entre une inflorescence et une fleur. La conclusion est sur la main: Une inflorescence n'est, en somme, qu'un état *préfloral* et, une fleur, une inflorescence contractée.

Parallèlement à ces changements, nous voyons la fonction stigmatique se déplacer. Elle s'éloigne en quelque sorte du centre et devient de plus en plus périphérique, au fur et à mesure qu'on monte l'échelle des végétaux. Chez beaucoup de Préphanérogames [*Lagenostoma* (Ptéridospermée)] et les *Araucaria*, c'est le *nucelle* qui capte le pollen; dans le genre *Gnetopsis* (Ptéridospermées), chez les Pinacées et *Gnetum*, la fonction stigmatique incombe au *tégument;* enfin, chez les Angiospermes, on sait que ce sont les *carpelles* qui l'assument.

*

Connaissant ces faits, on arrive à la conclusion logique qu'on peut appeler *fleur* un pied de Fougère.

Regardons un pied de Scolopendre ou Langue de Cerf (*Scolopendrium vulgare*) (fig. 4*a*). Il comporte, au centre, un bouquet de frondes fertiles entouré de frondes stériles, mais toutes sont identiques. Dans un autre genre de Fougères, le g. *Blechnum* (fig. 4*b*), les frondes fertiles et stériles sont dimorphes, mais leur situation réciproque est inchangée, la même que chez la Scolopendre. La fleur ♂ de certains *Cycadeoidea* (Bennettitinées) (fig. 4*c*) ressemble énormément à un pied de Fougère: les pièces stériles pubescentes externes formant périanthe sont homologues des frondes stériles de *Blechnum;* les étamines le sont des frondes fertiles de la Fougère. Les petites frondes fertiles de *Cycadeoidea* sont même enroulées en crosse dans le bouton! Réduisons maintenant progressivement, comme l'a fait la nature, l'appareil sporifère des *Cycadeoidea:* les genres *Williamsonia* et *Williamsoniella* sont les étapes intermédiaires conduisant à la fleur d'Angiospermes (fig. 3*d–g*).

Au stade des *Williamsonia* et des *Williamsoniella* nous ne sommes pas loin de la fleur, au sens commun du terme: il suffit que l'appareil ♂ – que nous pouvons

[1] R. FLORIN, *Die Koniferen des Oberkarbons und des unteren Perms*, (8 fasc.); Palaeontographica, 1938–1945.

[2] L. EMBERGER, *loc. cit.*

appeler maintenant *staminal* – soit réduit à des synanges des 4 sporanges. Les étamines des *Rhizophora*, de certaines Rubiacées (*Dictyandra* sp.) et de Guttifères (*Garcinia* sp.) (fig. 4*h, i*) par leurs étamines multiloculées rappellent encore celles des Bennettitinées. Nous avons ainsi trouvé une chaîne continue reliant la Scolopendre à la fleur d'Angiosperme. Le pied de Fougère ayant morphologiquement *essentiellement* la même structure que la fleur, ce n'est pas une sottise de dire que les Fougères ont des fleurs! Les recherches morphologiques modernes, guidées par la paléontologie, ont montré que la fleur n'est pas l'apanage des Angiospermes, mais un bien commun à tous les végétaux vasculaires, Phanérogames et Cryptogames.

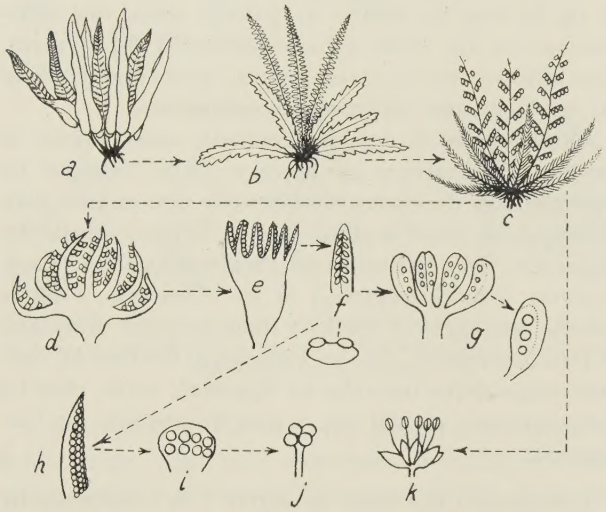


Fig. 4. De la Fougère à la fleur des Angiospermes. *a:* Pied de Scolopendre (*Scolopendrium vulgare*) à frondes nomomorphes; *b:* pied de *Blechnum spicans*, à frondes dimorphes; *c:* «fleur» de Bennettitinée (*Cycadeoidia*); *d:* «fleur» de Bennettitinée (*Williamsonia spectabilis*); *e:* «fleur» de Bennettitinée (*Williamsonia mexicana*); *f:* étamine de *Williamsonia whitbyensis* (vue de face et en coupe); *g:* fleur et étamine multiloculaire de *Williamsoniella coronata* (Bennettitinée); *h:* étamine multiloculaire de *Rhizophora mangle; i:* étamine multiloculaire de *Garcinia hanbury; j, k:* étamine et fleur ♂ classiques d'Angiospermes. (Les flèches indiquent les rapports.)

Dès lors la définition classique de la fleur qui dit que cet organe est un axe plus ou moins court portant des feuilles reproductrices exprime bien mal sa vraie nature. *La fleur des Angiospermes, même la plus simple, représente un ensemble ramifié, un buisson d'axes foliarisés, contractés et plus ou moins unis par des concrescences.* Elle n'est unité que *biologiquement.* L'unité *morphologique* de la fleur n'est pas une feuille, comme le veut la théorie classique, mais le sporange, c'est-à-dire le sac pollinique et la nucelle, ou son homologue stérile. Il suffit, si l'on désire une preuve supplémentaire, de «décomposer» la fleur, en d'autres termes, de lui faire faire le chemin inverse de celui qu'elle a parcouru au cours de la phylogénèse (fig. 4*k* à *a*).

Une objection vient immédiatement à l'esprit: l'on n'a jamais vu une étamine revenir à l'état d'axe ramifié alors qu'il est facile d'observer des transformations en feuille, ce qui prouverait que l'étamine est bien une feuille et non caulinaire.

Mais, la feuille elle-même est un ensemble caulinaire, ramifié et foliarisé dont les membres sont plus ou moins unis par une palmure (limbe). L'histoire de la fronde des Fougères et de la feuille des *Sphenophylla* (Articulées paléozoïques) le met admirablement en évidence[1]. On sait que les retours vers l'état initial ne sont jamais complets; celui des étamines s'arrête au stade foliaire. Si la régression allait plus loin, il est vraisemblable qu'elle se rapprocherait de plus en plus de l'état ramifié primitif. Cette hypothèse est soutenue par les observations faites récemment sur les modifications morphologiques provoquées par le 2,4-dichlorophénoxyacétate de sodium sur la Courgette (*Cucurbita Pepo*). Les feuilles de cette espèce, après traitement par cette substance d'individus au moment de fleurir, ne sont plus simples et cordées-triangulaires, mais profondément digitées et à lanières étroites ou plus ou moins composées palmées. En d'autres termes, la feuille revient, sous l'influence du traitement, à l'état ramifié antérieur[2].

Connaissant ces faits, il est intéressant de savoir s'il existe dans la nature actuelle des structures non encore parvenues à l'état de fleur, autrement dit, s'il existe parmi les Angiospermes des états préfloraux. L'on est surpris du grand nombre d'exemples qu'on peut donner. Nous croyons pouvoir citer de nombreuses familles: Moracées, Euphorbiacées, Hamamélidacées, Crucifères, Rhamnacées, Araliacées, Cornacées, Oléacées, Caprifoliacées, Rubiacées, Loganiacées, Composées, Graminées, etc. Nous figurons ici les cas les plus intéressants.

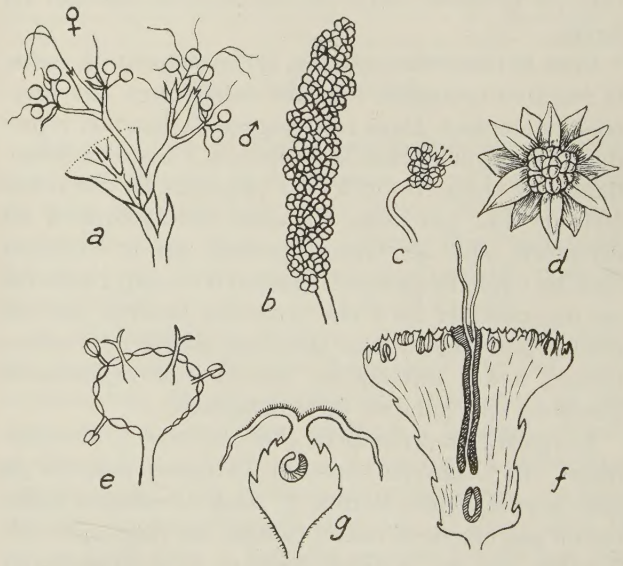


Fig. 5. Etats préfloraux chez les Moracées. *a: Bleckrodia insignis; b: Broussonetia* ♂*; c: Plectospermum; d: Phyllochlamys* ♂*; e: Brosimum; f: Lanessania; g: Antiaris* (réceptacle ♀ entier). (Figures prises dans ENGLER et PRANTL et dans VELENOWSKY.)

[1] Voir L. EMBERGER, *loc. cit.*

[2] LUCIE ARVY et J. LHOSTE, Ann. Sci. nat. bot. [11e série], 8 (1947).

Moracées (fig. 5): Une belle série existe reliant le genre *Bleckrodia*, à inflorescence dispersée, et *Antiaris* dont les réceptacles femelles sont uniflores. Le g. *Lanessania* (fig. 5*f*) réalise déjà l'état floral, alors que celui-ci est indiscutablement issu d'une inflorescence.

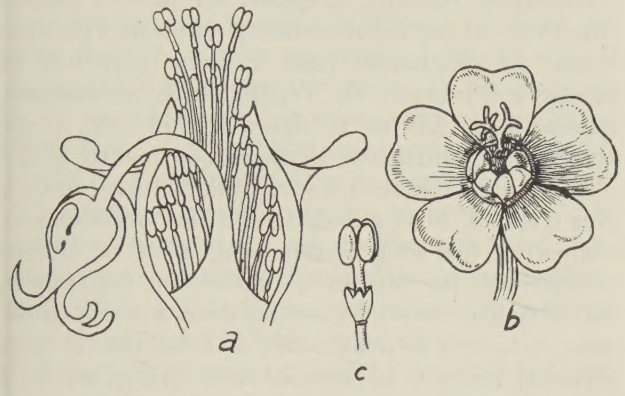


Fig. 6. Euphorbiacées. *a:* Une cyathe entière (vue en coupe); *b:* une cyathe entière imitant une fleur; *c:* une fleur ♂ d'*Anthostema*, avec périanthe. (D'après BAILLON.)

Euphorbiacées (fig. 6): La figure représente une inflorescence élémentaire (*cyathium*) d'Euphorbe de nos pays.

On sait que le *cyathe* est une inflorescence formée d'une fleur ♀, centrale, entourée de 5 petites cymes unipares de fleurs ♂ monostaminées. Chaque étamine est une fleur, car à l'articulation elle est parfois pourvue d'un périanthe (*Anthostema*) (fig. 6*b*). Lorsque les cymes ♂ sont monostaminées, comme on peut l'observer, par exemple, chez *Euphorbia hirta* (R. NOZERAN[1]), une véritable fleur ☿ 5-staminée et à gynophore est réalisée.

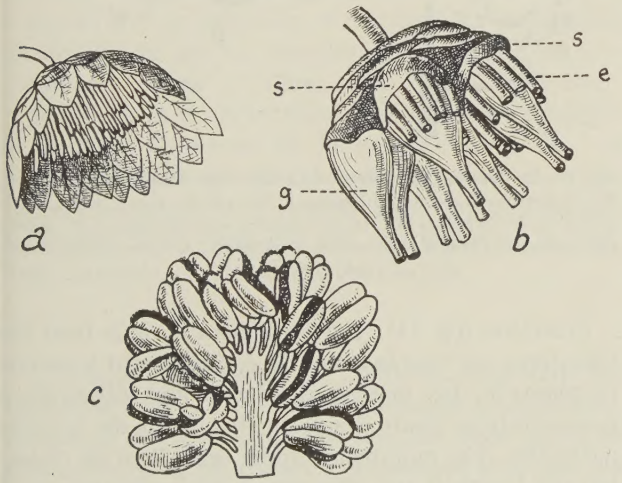


Fig. 7. Etats préfloraux chez les Hamamélidacées. *a:* Capitule de *Rhodoleia; b:* Capitule de *Rhodoleia*, l'involucré enlevé [*s:* Sépales (calice); *e:* étamines; *g:* carpelles (gynécée)]; *c: Liquidambar.* (Pris dans ENGLER et PRANTL.)

Hamamélidacées (fig. 7): La figure montre, en haut, une inflorescence de *Rhodoleia*. A droite, celle-ci est dépouillée de l'involucre pétaloïde, et l'on voit nettement que chaque ovaire est entouré d'étamines (*e*) et d'un calice rudimentaire en bourrelet (*s*). Remarquons que ces fleurs sont apétales et que le calice (*s*) est déjà très réduit. Si celui-ci disparaissait totalement, et si les étamines avortaient complètement ou partiellement, la *fleur* serait réalisée. Il n'est pas téméraire d'imaginer un tel processus, car toutes les réductions qu'il suppose ont été observées dans la nature.

En bas de la fig. 7, il y a un organe ♂ de *Liquidambar:* On ne peut dire s'il elle est encore une inflorescence ou déjà une fleur, tellement l'ensemble est condensé.

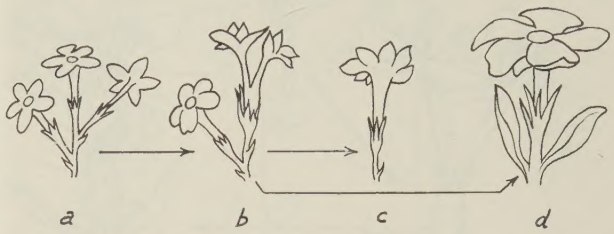


Fig. 8. Origine de la fleur polymère des Jasmins. *a:* cyme bipare normale de *Jasminum fruticans; b:* cyme de la même espèce (2 fleurs sont unies); *c:* fleur polymère exceptionnelle de *Jasminum fruticans*, issue de l'union de 2 fleurs; *d:* fleur polymère *normale* de *Jasminum primulinum.* (D'après R. NOZERAN, inédit.)

Rhamnacées: Dans certains genres (*Hovenia*), il y a une inflorescence typique. Les Nerpruns (*Rhamnus*) ont aussi une inflorescence, mais déjà plus contractée. La contraction est encore plus avancée chez *Spyridium*. Enfin, chez *Cryptandra*, il y a des fleurs simples, non en inflorescences, mais les nombreuses bractées infraflorales indiquent qu'à l'aisselle de chacune d'elles il y avait, jadis, une fleur, donc que l'état antérieur était inflorescential. Si les *Cryptandra* étaient les seules Rhamnacées du monde, on classerait peut-être ces plantes ailleurs que là où nous les mettons, car ces structures réduites à une seule fleur involucrée de nombreuses bractées peuvent être interprétées comme fleurs à *n* préfeuilles ou à calice polyphylle. Sans doute beaucoup de fleurs «à beaucoup de préfeuilles» ou à calice «polyphylle» représentent-elles des inflorescenses réduites par le mécanisme phylogénétique décrit.

Loganiacées: Du point de vue qui nous occupe, cette famille est parallèle aux Rhamnacées. Le type de structure de la fleur de *Cryptandra* existe chez *Antonia ovata*. Cette fleur a «beaucoup de préfeuilles» ou un calice polysépale. Dans le g. *Strychnos*, la fleur est classique, à calice simple.

Cornacées: R. NOZERAN[1] a pu suivre pas à pas, par les diagrammes, comment une fleur hexamère parfaite peut se former par coalescence progressive de 2 fleurs distinctes, mais appartenant à une inflorescence cymeuse.

Oléacées: Le genre Jasmin (*Jasminum*) (fig. 8) a des inflorescences cymeuses (*J. fructicans*) ou des fleurs

[1] R. NOZERAN, Observation inédite.

[1] R. NOZERAN, Observations encore inédites.

solitaires (*J. primulinum*). Or, R. NOZERAN[1] a constaté que celles de *J. primulinum* ont presque toujours normalement plus de 5 pétales, alors que, chez l'autre espèce, la polypétalie est très rare. La figure 8 montre clairement que la fleur de *J. primulinum* est le résultat de la condensation extrême d'une petite cyme.

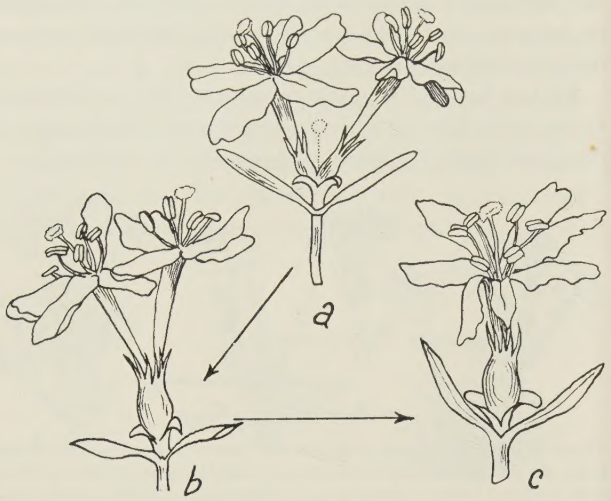


Fig. 9. Origine de la fleur polymère de *Lonicera Alberti* à partir d'une cyme bipare (*a*) à fleur centrale avortée. (D'après VELENOWSKY.)

Caprifoliacées (fig. 9): La polymérie florale des Caprifoliacées a la même origine que celle des Oléacées, comme le montre la figure. En *c*, une fleur 7-mère est réalisée.

On peut se demander si les fleurs de certaines *Primulacées*, 7-8-mères de *Trientalis europæa* ou 6-7-mères de *Lysimachia thyrsiflora*, ne représentent pas des fleurs fixées issues de telles contractions. Des recherches sur ce point n'ont pas encore été faites.

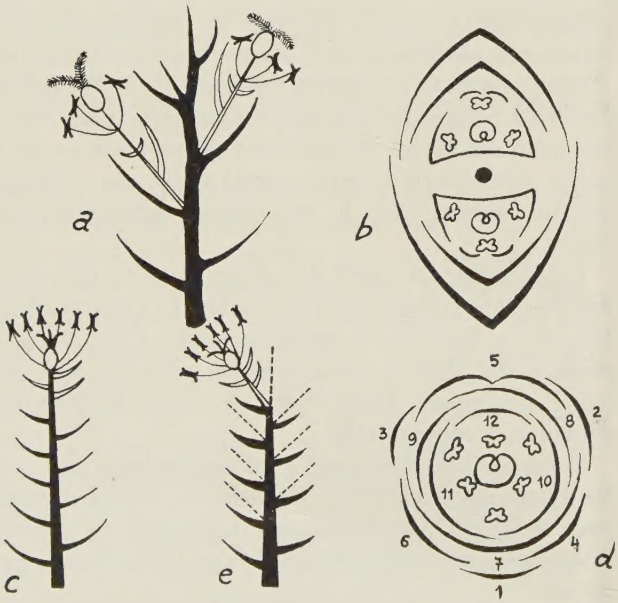


Fig. 10. Interprétation de l'épillet des Graminées. *a:* Epillet biflore; *b:* diagramme de *a; c:* épillet de *Streptochæta* (pris dans ENGLER et PRANTL); *d:* diagramme de *c; e:* schéma théorique de l'épillet.

[1] R. NOZERAN, Observations encore inédites.

Composées: Le capitule bien connu de ces plantes est un état préfloral. Dans le g. *Echinops*, ce capitule est 1-flore, c'est-à-dire qu'il est une fleur, comme dans les genres *Cryptandra*, *Antonia*, dont il a été question tout à l'heure.

Graminées (fig. 10): L'épillet, en haut à gauche (fig. 10 *a*), est une inflorescence, 2-flore dans l'exemple choisi. Le diagramme joint à droite (fig. 10 *b*) en montre la structure. Or, l'épillet du g. *Streptochæta*, représenté en bas de la figure (fig. 10 *c*, *d*), a une structure très différente. Le diagramme montre qu'il y a ici une véritable fleur à périanthe multiple; il n'y a plus d'épillet. Si la grande famille des Graminées ne comportait que le g. *Streptochæta*, nous ne dirions certainement pas que les Graminées ont des épillets, mais simplement qu'elles ont des fleurs à ovaire monomère, entourées de deux cycles de 3 étamines et d'un périanthe formé de 12 pièces en ordre 3-mère, soit 4×3 pièces. Seule l'existence des autres Graminées nous fait parler, à propos du g. *Streptochæta*, d'épillets et permet de dresser le schéma théorique représenté figure 10 *e*, représentant un épillet classique dont seule la glumelle supérieure serait fertile.

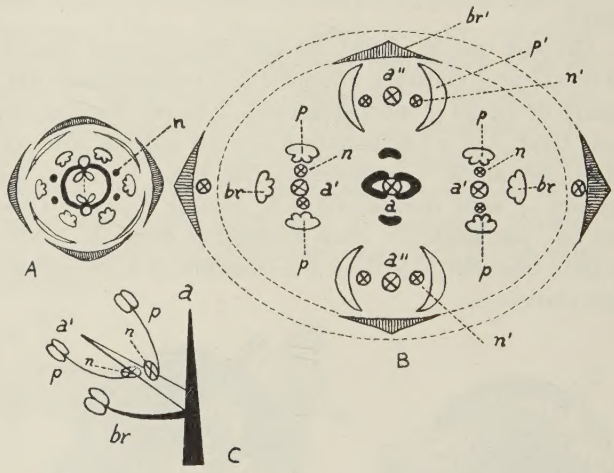


Fig. 11. *La fleur des Crucifères. A*: Diagramme empirique classique; *B*: Diagramme théorique (d'après J. MOTTE) [*a*, *a'*, *a''*: axes; *n*, *n'*: nectaires; *br:* bractées (à l'état d'étamines on de sépales); *p*, *p'*: pièces préfoliaires (à l'état d'étamines on de pétales)]; *C*: une cymule staminale (schéma).

Crucifères (fig. 11): J'ai gardé pour la fin la fleur des Crucifères, car tout le monde la connaît; tout le monde l'a observée. Les maîtres d'école la font disséquer à nos enfants au cours des premières leçons de sciences naturelles. J'ai moi-même étudié cette fleur en classe, lorsque j'avais 9 ans. Elle paraît si simple avec ses 4 sépales, ses 4 pétales en croix, ses 6 étamines, ses 2 carpelles et ses nectaires (fig. 11 *A*). Or, cette fleur, si simple qu'elle paraît tout indiquée pour initier nos enfants à la botanique, est une des plus difficile à expliquer! On a écrit des volumes sur elle pour en comprendre la structure; sa corolle en diagonale et son androcée, si curieux, à 2 étamines latérales et 4 antéro-

postérieures ont dérouté les esprits les plus sagaces. Jamais on n'est arrivé à une solution!

Nous connaissons aujourd'hui, je crois, le motif de ces incertitudes et de ces difficultés: la fleur des Crucifères *n'est pas encore une fleur*, mais un état *préfloral;* elle est encore à l'état d'inflorescence, mais d'inflorescence tellement contractée que l'illusion d'être en présence d'une vraie fleur est totale. J. Motte a eu la chance, en Afghanistan, de mettre la main sur des fleurs anormales qui ont brusquement donné la lumière. Il en a établi le diagramme reproduit figure 11 *B*. La clef du problème est dans les nectaires[1].

J. Motte a constaté que les nectaires (*n*, *n'*) des Crucifères ne sont pas des glandes ordinaires, mais représentent des axes feuillés, habituellement extrêmement réduits à l'état d'organe nectarigène, mais retrouvant parfois leur véritable nature d'axes.

Dès lors, tout devient clair; les 6 étamines se décomposent en deux groupes représentant chacun une petite cyme portée par l'axe floral *a*. Ces cymules sont formées, chacune, d'un axe (*a'*) situé à l'aisselle d'une bractée représentée par l'étamine *br* et portant deux préfeuilles (*p*), elles-mêmes à l'état staminal. Enfin, ces étamines *p* axillent des bourgeons (*n*) qui sont les nectaires classiques. La figure 10*C* représente une de ces cymules staminées élémentaires.

La corolle également fait partie de deux petites cymes: L'axe floral *a* porte les sépales qui jouent le rôle de bractée (*br'*) axillant *a''*. Cet axe secondaire porte deux préfeuilles, qui sont ici les pétales (*p'*), abritant, à leur tour, parfois des bourgeons-nectaires (*n'*).

Enfin, au sommet de l'axe floral *a*, il y a deux cycles de deux carpelles, les antéro-postérieurs sont très réduits, à l'état de placentas, et représentant les carpelles fertiles, tandis que les carpelles latéraux, ceux qui sont considérés comme ovulifères, sont stériles. Cette interprétation de la structure florale des Crucifères nécessite la présence théorique de 14 nectaires-axes. Or, ces 14 nectaires ont été effectivement observés chez certaines Crucifères! Cette fleur est donc aujourd'hui parfaitement claire, mais elle est, contrairement à l'opinion courante, extrêmement compliquée.

*

Le mécanisme de la genèse florale est donc clair: *Les sporanges, d'abord dispersés, se groupent progressivement, s'unissent et, en combinaison avec des phénomènes de contraction et de foliarisation, aboutissent à la fleur au sens populaire du terme.*

Mais ces fleurs formées ainsi par le groupement d'organes élémentaires (fig. 5*e*) peuvent se regrouper une nouvelle fois, se condenser à nouveau, d'abord en inflorescences lâches, par exemple des grappes (fig. 12, *1*), puis plus compactes (fig. 12, *2* et *3*), enfin, en fleurs solitaires (fig. 12, *4*) et ainsi de suite (fig. 12, *5* et *6*), jusqu'à ce que la fleur unique terminale soit réalisée (fig. 12, *7*). Le stade ultime est donc atteint à la suite d'une série de *crises* de contractions comparables à un mouvement ondulatoire. On n'a pas encore recherché attentivement des exemples de ces états finaux, mais je pense qu'il en existe chez les Monocotylédones et chez certaines Dicotylédones, par exemple chez les Loganiacées.

Fig. 12. Contractions successives (*1* à *6*) aboutissant à la fleur terminale solitaire (*7*).

Ce «mouvement» phylogénétique permet de comprendre la notion d'*état préfloral*, état réalisé plusieurs fois le long de la phylogénèse d'une lignée avant que le terme ultime de la fleur terminale solitaire soit atteint. Ces états préfloraux sont plus évolués que ceux qui les précèdent, mais moins que ceux qui les suivent. Ainsi, dans la figure 12, le schéma *3* est plus évolué que *2* et moins que *4*. L'aboutissement final étant la fleur terminale unique, le terme de *préfloral* pour les structures condensées, telles les capitules, épillets, est justifié et exprime clairement l'idée[1].

A partir du moment ultime, concrétisé par la fleur terminale unique, la phylogénèse ne peut opérer que par des réductions numériques d'organes ou de cellules et par concrescences. On pourrait, sur ce point, procéder à un grand et intéressant développement ayant trait, notamment, aux organes reproducteurs. Le morphologiste peut ainsi *mesurer* en quelque sorte la marge phylogénétique que chaque organe a encore devant lui avant d'arriver à son terme.

*

[1] J. Motte, *Une nouvelle interprétation du diagramme des Crucifères*, Rec. Trav. Inst. bot. Montpellier (2° fasc.), 1946.

[1] Certains auteurs (H. Gaussen) considèrent ces états préfloraux comme états *surévolués*, ce qui, à la lumière des faits, est inexact. D'une manière générale, le terme de surévolution ne me paraît pas très heureux. Si le cyathe, par exemple, est surévoluée, comment faudra-t-il qualifier la structure florale qui en résultera ou en est déjà issue par contraction? (voir p. 165).

Ces notions exposées dans les pages qui précèdent ont, on le comprend, une portée qui dépasse la seule morphologie florale. Elles nous obligent à *repenser* beaucoup de données qu'on pouvait croire définitivement acquises. La systématique en sera profondément influencée, car il sera possible de mieux savoir ce qu'il

Fig. 13. Action du 2,4-dichlorophénoxyacétate de sodium sur *Cucurbita Pepo*. – A gauche, une feuille-témoin, normale; à droite, les feuilles se formant après traitement. (D'après Lucie Arvy et Jean Lhoste.)

convient d'appeler *inférieur* et *supérieur, archaïque* et *évolué*, notions fondamentales en cette matière. Elles mettent fin aux discussions, souvent si passionnées, des morphologistes pour savoir si une structure donnée est une inflorescence ou une fleur. Ces discussions, en effet, n'ont plus d'objet. Beaucoup de problèmes, jadis obscurs, pourront être résolus. Elles montrent aussi, hélas, les immenses difficultés qui résultent de la progression phylogénétique inégale des divers organes composant l'organisme.

*

Ainsi s'est accomplie, au cours des temps, la longue gestation de la fleur. Ce que nous voyons aujourd'hui n'est d'ailleurs qu'une étape. Le film continue à se dérouler, mais avec une telle lenteur que le monde nous paraît immuable. Cette «coupe» phylogénétique à travers les temps montre que la fleur n'est pas née avec les Angiospermes; elle existait déjà depuis longtemps, mais dans un état très primitif, à l'état naissant, chez les Cryptogames vasculaires du Dévonien. Seulement, chez les Angiospermes actuelles, les organes reproducteurs sont hétérosporés et toujours densément groupés par la phylogénèse. C'est cette condensation qui fait les fleurs au sens courant du terme. La fleur moderne n'est qu'un *effet d'ensemble*, un effet physionomique.

Avec quelle extraordinaire lenteur agit la phylogénèse! *Patiens quia æterna*, peut-on dire d'elle. Et c'est bien vrai. A partir de la première croûte terrestre qui s'est formée, 20 millions de siècles étaient nécessaires pour conduire les Thallophytes à l'état de plante à ovule dévonienne, et depuis les 3–4 millions de siècles qui nous séparent de la date d'apparition de ces végétaux, rien de *radicalement* nouveau n'a fait son apparition. Tout existait, tige, racine, feuille, fleur. Mais avec quel génie admirable la nature a su broder sur le thème primitif, sur le *Leitmotif* – contractions, concrescences, foliarisations – pour produire l'immense variété des formes! Quelle artiste! Avec quelle simplicité de moyens, avec quelle imperturbable persévérance et avec quelle ténacité elle a conduit les végétaux vers leur destinée! Rien n'a pu la détourner de son but, rien n'a pu l'arrêter! Quelles qu'aient été les conditions du monde, les végétaux ont poursuivi leur carrière sans défaillance, se moquant des révolutions cosmiques, comme mus par un moteur infatigable et d'une invincible force, chaque mouvement conditionnant le suivant, comme se déroulent avec un déterminisme inexorable, les phases de ces fameuses et redoutables «réactions en chaînes» une fois qu'elles sont déclanchées. Ces forces ne sont pas aveugles. Elles obéissent; elles obéissent non pas à des lois, mais à *la* Loi. Et cette ultime réflexion fait apparaître dans notre intelligence un spectacle grandiose, spectacle qui trouble l'honnête homme qui ne croit qu'à la science, qui confond dans un abîme d'humilité celui qui croit tout court, car l'un et l'autre ressentent qu'ils sont ici à la frontière de la science, au delà de laquelle seul règne l'Esprit.

Zusammenfassung

Der Verfasser schildert die neusten Auffassungen über die Morphologie der Blüte. Dieses Organ wird an Hand paläontologischer Befunde geprüft.

Die Blüte nimmt schon in den Urzeiten der Gefäßpflanzen eine bestimmte Form an. Es ist möglich, zu verfolgen, wie sich die Blüte schrittweise durch Kondensierungen, morphologische Kontraktionen, Verwachsungen und Foliarisation gebildet hat.

In der gegenwärtigen Pflanzenwelt kommen noch Stadien vor, die als «vorblütig» («préfloraux») anzusehen sind oder die das Stadium der Blüte im gewöhnlichen Sinne noch nicht erreicht haben.

The Proteins in the Cells and in Embryonic Development[1]

By Silvio Ranzi[2], Milan

A viscosimetric analysis of the shape of protein particles

A viscosimetric method allowing one to recognize the shape of protein particles in solution has been devised. The method is based on the differences in behaviour of the different kinds of proteins upon denaturation[3].

Two samples are prepared from a protein solution. In the first, KSCN is added up to 0·05–0·1 m final concentration. In the second (the control) the same amount of KCl is added.

To 10 ml of protein solution (from 0·01% to 0·1%) 0·6 ml of 1 m KSCN are added. 10 ml of the same solution plus 0·6 ml of 1 m KCl are used as control[4]. After standing 4 hours at 10°–20° C (or overnight at 0°C) the viscosity was measured in an Ostwald viscosimeter. Owing to the low concentrations used in our experiments, determination of density is not necessary.

In a protein solution with fibrillar particles, the specific viscosity $\eta_{sp} = \frac{t_1}{t_0} - 1$ (where t_1 is the outflow time for the solution and t_0 is that of the solvent) of the sample treated with KSCN is lower than the one treated with KCl. On the other hand, in a protein solution with globular particles the specific viscosity of the KCl-treated control is lower than that of the sample treated with KSCN.

The values of specific viscosity of proteins of known molecular shape (by flow-birefringence, electron microscope, ultracentrifuge) are given in figure 1. It shows a good agreement between our data and those obtained with other methods.

The KCl and KSCN samples show also differences in surface tension. Using Du Noüy's tensiometer, solutions of fibrillar shaped proteins show a lower surface tension when treated with KSCN than when treated with KCl. On the other hand, solutions of globular proteins show higher surface tension when treated with KSCN than when treated with KCl. However, the differences in surface tension are very small, whereas those obtained by viscosity measurements are much greater.

The effect of the following salts was tried in parallel samples: KCl and KI; KCl and $KClO_3$; KCl and KBr; KCl and KNO_3; NaCl and NaSCN; NaCl and NaI; in the same way as reported for KCl and KSCN. It has been found that in the presence of KI, $KClO_3$, KBr, KNO_3, NaSCN, NaI the viscosity of solutions of fibrillar proteins is lowered with respect to that of the same proteins in KCl or NaCl. Solutions of globular proteins on the contrary, under the same conditions, show increase in viscosity. Such viscosity changes are induced by all swelling ions. The activity of these ions follows the Hofmeister's series $SCN > I > Br > ClO_3 > NO_3$. The decrease in viscosity of solutions of fibrillar proteins is rather conspicuous in presence of SCN, while it is small with NO_3.

SCN and I were used in the following experiments because of their stronger effect on viscosity.

An experiment (fig. 2) was carried out as follows: to an actomyosin solution in buffered 1 m KCl, constant amounts of 1 m KCl, or of a mixture of 1 m KCl + 1 m KSCN in different proportions, was added.

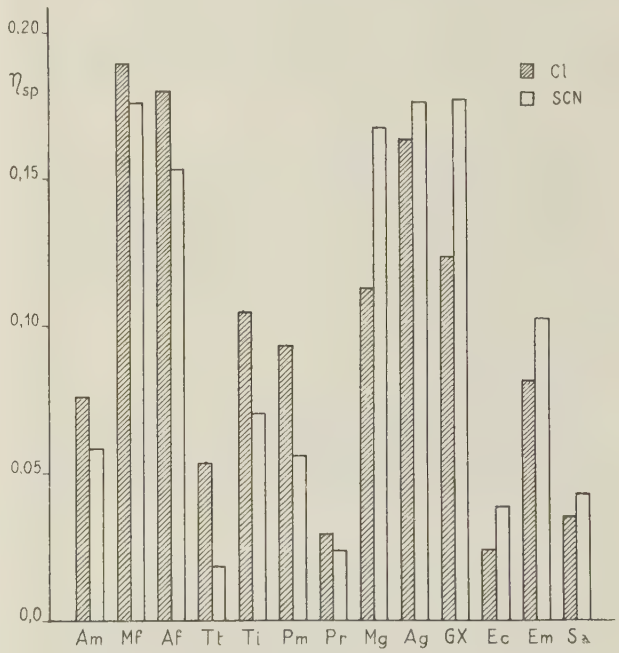


Fig. 1. – Specific viscosity of some protein solutions with the described method. The shaded column is the viscosity of the control (with KCl), the adjacent white column is the viscosity of the sample treated with KSCN. Am, pigeon actomyosin; Mg, Szent Györgyi's myosin of pigeon dissolved in 0·1 m KCl (fibrillar); Af, pigeon actin at p_H 6·5; Tt, sodium thymonucleinate from ox pancreas; Ti, thymonucleohistone from pigeon erythrocytes; Pm, Mirsky's protein from sea urchin eggs; Mg, Szent Györgyi's myosin of pigeon dissolved in 0·5 m KCl; Ag, pigeon actin at p_H 8·0; GX, globulin X of pigeon muscles; Ec, euglobulin C from sea urchin eggs; Em, pigeon hemoglobin; Sa, serum albumin. The proteins represented on the left side of diagram show fibrillar shaped particles; in all these proteins the viscosity of the control (with KCl) is the highest. The proteins represented on the right side show globular shaped particles; in all these proteins the viscosity of the sample treated with KSCN is highest.

[1] Lecture held in occasion of the meeting for the inauguration of the Theodor Kocher Institute in Berne on July 7th, 1950.

[2] Zoological Laboratory, University of Milan (Italy).

[3] S. Ranzi, Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *24*, 396 (1948). – M. Cigada, P. Citterio, A. Orlandi, S. Ranzi, and L. Tosi, Rend. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *82*, 351 (1949).

[4] According to our experience an error of 0·5 ml over 10 ml is immaterial for the result. The same is true for an error of 0·05 ml over 0·6 ml.

The increase of KSCN concentration up to a final concentration of about 0·01 m induces a decrease in the viscosity. Higher concentrations of KSCN cause increase in viscosity sometimes up to the value of the control with KCl. The flow-birefringence decreases with the increase of KSCN concentration and falls to zero for the highest concentrations of KSCN.

KSCN, at least up to a concentration of 0·5 m, added in the same way to a solution of a globular protein (i. e. globulin X of the muscle or hemoglobin) causes an increase in viscosity (fig. 2).

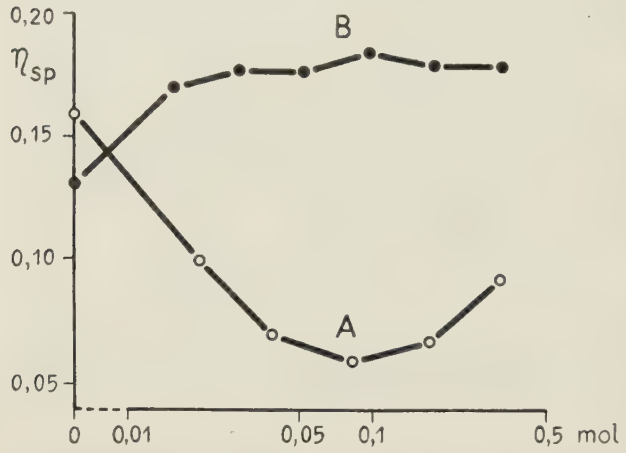


Fig. 2. – Specific viscosity on the ordinate of solutions A) of actomyosin; B) of globulin X of muscles; on the abscissa the concentration of KSCN substituted in the solvent for equimolecular amounts of KCl.

The behaviour of the two kinds of proteins for increasing concentrations of KSCN up to 0·1 m, as illustrated in the left part of the two diagrams, can be compared with the phenomena occurring on protein denaturation. On denaturation globular proteins show increase in viscosity: fibrillar proteins show decrease in viscosity[1].

With the electron microscope, actomyosin treated with KSCN (or KI) shows shorter particles. The same is true for thymonucleohistone. For the lower concentrations of KSCN, particles are short. At high concentrations of KSCN particles appear as globular. This change is irreversible. Actomyosin, globular after treatment with KSCN, was precipitated by dilution and redissolved. The operation was repeated a few times. Even after complete removal of KSCN from the solvent, the actomyosin appeared still as globular.

The increase in viscosity of a solution of a globular protein induced by KSCN can be due to a swelling of the protein particles. The increase of specific viscosity $\eta_{sp} = \nu \Phi$ (ν being a value related to the anisotropy of particles and Φ the portion of the solution occupied by protein particles), induced by KSCN, cannot depend on a variation of ν. In a solution of hemoglobin indeed the flow-birefringence does not appear. The increase of specific viscosity thus is to be accounted for by an increase of Φ, namely a swelling of protein particles induced by KSCN.

The increase in viscosity of a solution of a fibrillar protein for a further increase of KSCN concentration above 0·1 m parallels the increase observed in a solution of a globular protein in presence of KSCN.

Shape and structure of the protein particle

With the described viscosimetric method, globular proteins in solution, as e. g. hemoglobin, can be distinguished from the fibrillar ones, as e. g. actomyosin, even in such diluted solutions, for which analysis of flow-birefringence fails to give any result.

Besides, four kinds of proteins can be identified by comparison of the data obtained with this method and those obtained from flow-birefringence in Gerandas' cell (table).

Protein shape	Shows higher viscosity with	Flow-birefringence	Example of protein
globular . . .	KSCN	absent	hemoglobin
fibrillar folded	KCl	absent	euglobulin a + b from egg
fibrillar . . .	KCl	present	actomyosin
sponge shaped	KSCN	present	rigid thymonucleohistone

The data, just referred to, show that fibrillar protein particles can be broken into smaller particles. Those appear as isodiametric with our methods. Fibrillar actin is built up according to this scheme[1]; p_H changes induce globular actin to polymerize into fibrillar actin and fibrillar actin to depolymerize. By varying p_H we succeeded in transforming actomyosin and $a + b$ fractions of euglobulin of frog and of sea urchin eggs into protein which appears as globular. $a + b$ globular euglobulin cannot be transformed into fibrillar particles, but that is possible with actomyosin.

It is possible that the fibrillar proteins are built up by polypeptide chains united by bonds which are broken by SCN or I. Once these bonds have been broken the smaller particles exhibit globular shape with our methods (decrease in viscosity, disappearance of the flow-birefringence). Further breaks induce greater disorder of the polypeptide chains and the particles become ramified (increase in viscosity without appearance of flow-birefringence).

At this point we thought that the chromosomes, isolated by Mirsky and Ris' method[2] could be taken as a model of a fibrillar protein particle, on the assumption

[1] H. Neurath, J. P. Greenstein, F. W. Putnam, and J. O. Erickson Chem. Rev. *34*, 157 (1944).

[1] A. Szent Györgyi, *Chemistry of muscular contraction*, Academic Press, New York (1947).

[2] A. E. Mirsky and H. Ris, J. gen. Physiol. *31*, 1 (1947).

that the bonds uniting the particles of chromosome structure were the same as those uniting the polypeptide chains in a fibrillar protein particle. The isolated chromosomes were treated with 0·16 m KSCN or KI or at high p_H. Chromosomes disintegrate in long threads. If we imagine a chromosome built in a similar way as a protein molecule, the break pattern of a chromosome appears to be similar to that of a fibrillar protein particle setting free polypeptic chains, when broken down.

Some proteins from animal tissues

Experiments were carried out, with our methods, using muscular proteins. These were considered a good object, as many of their properties have been largely investigated in recent years. The results have already been published in this Journal[1]. The electron microscope pictures have been published by Cigada[2].

Arosio and Orlandi (unpublished data) also succeeded in extracting from the electric organ of Torpedo a small amount of a myosin-like protein. This latter gives also threads which contract with ATP. An actin-like protein can also be extracted from the electric organ; that can be combined with mouse myosin. A complex is thus obtained which is able to give threads.

Thymonucleohistone was also studied with our methods. As I already said, the sponge shaped particles of this substance show an increase in viscosity with SCN, but show also flow-birefringence. If thymonucleohistone is broken, mechanically or by dilution, flow-birefringence is still present but with SCN viscosity decreases as in all fibrillar proteins[3].

Embryonic proteins

The investigations of Mirsky[4] and Connors and Scheer[5] have shown the presence of a fibrillar protein in sea urchin egg extracts. This protein fraction is fibrillar shaped when prepared by precipitation with ammonium sulphate. If on the other hand precipitation is carried out by dilution, and the protein is redissolved in 1 m KCl, it shows fibrillar folded particles[6]. Two fractions can be separated from this protein: euglobulin *a* and euglobulin *b*. These two fractions are present in sea urchin, frog and fowl eggs. Other globulin fractions are present in all these eggs: euglobulin *c*, which shows globular shaped particles, and pseudoglobulin, which shows fibrillar folded particles.

Chicken embryos (Rhode Island Red) 6 days old contain large amounts of globular proteins soluble in 0·1 m KCl. From the 9th day on, a large synthesis of fibrillar or fibrillar folded proteins can be recognized. After the 16th day it is possible to demonstrate the synthesis of a large amount of proteins insoluble in 0·6 m KCl containing 30 per cent of urea. A part of this insoluble protein is keratin. The figures show that a transformation of globular proteins into fibrillar shaped ones and of fibrillar soluble proteins into insoluble ones is likely to occur.

During the development of the frog egg, the formation of the intercellular spaces and of the circulatory system is related to an increase of globular shaped proteins. These proteins arise from the fibrillar folded ones of the yolk.

Proteins and embryonic determination

Let us now take into consideration the behaviour of different kinds of proteins during embryonic determination. The existence of substances able to induce changes in embryonic determination (fig. 3) is known. LiCl

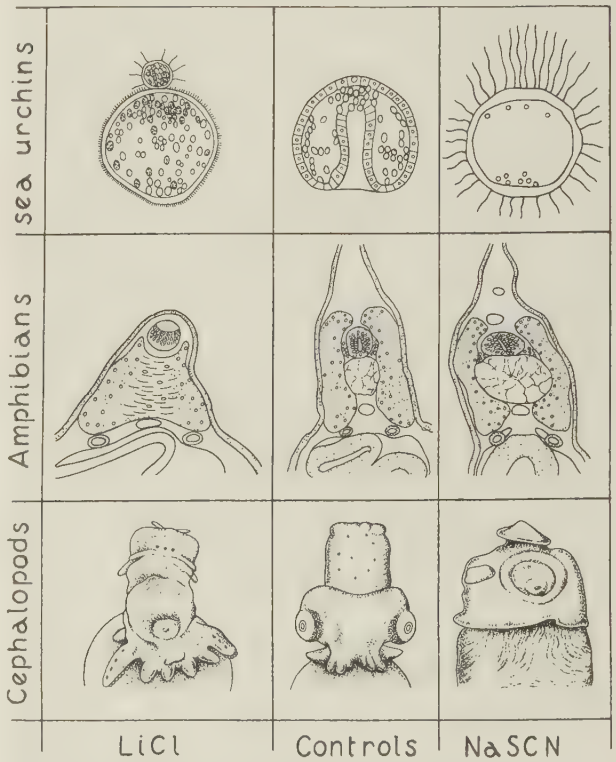


Fig. 3. – Scheme of the different changes induced by LiCl and NaSCN in the embryonic development: in sea urchins; in Amphibians (cross section of young tadpoles); in Cephalopods (embryo seen from the dorsal side). In the Cephalopods KSCN instead of NaSCN was used (from Ranzi 1947).

induces an hyperdevelopment of entoderm and mesenchyme at the expense of ectoderm in sea urchin embryos (vegetalization)[1], reduction of notochord[2] and cyclopia[3] in Amphibians and Cyclostomes[4], cyclopic

[1] M. Cigada, P. Citterio, S. Ranzi, and L. Tosi, Exper. *4*, 480 (1948).
[2] M. Cigada, Boll. Soc. ital. Biol. sper. *25*, 669 (1949).
[3] M. Cigada, P. Citterio, A. Orlandi, S. Ranzi, and L. Tosi, Rend. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *82*, 351 (1949).
[4] A. E. Mirsky, Science *84*, 333 (1936).
[5] W. M. Connors and B. T. Scheer, J. cell. comp. Physiol. *30*, 271 (1947).
[6] R. Arosio, P. Citterio, S. Ranzi, and L. Tosi, Rend. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *82*, 163 (1949).

[1] J. Runnström, Roux'Arch. *113*, 556 (1928).
[2] F. E. Lehmann, Roux'Arch. *138*, 106 (1938).
[3] G. Contronei, Arch. ital. Biol. *71*, 83 (1922).
[4] S. Ranzi and L. Janeselli, Rend. R. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *74*, 403 (1941).

monsters in Mollusca[1]. NaSCN induces an increase of the ectoderm at the expenses of entoderm and mesenchyme in the sea urchin (animalization)[2]; increase of notochord in Amphibians[3] and Cyclostomes[4] and monsters with a large stomodaeum in Cephalopods[5]. Schematically we might state that SCN induces a hyperdevelopment of some embryonic presumptive parts with a reduction of other parts. Li on the other hand affects these same parts, inducing hypodevelopment in the former and hyperdevelopment in the latter.

Besides LiCl, other substances are able to induce vegetalization in sea urchins[6] and malformations of the cyclopic series in Amphibians[7]. Swelling ions, vital dyes and paranitrophenol induce animalization in sea urchins[8] and enlargement of the notochord in Amphibians[9]. The effect follows Hofmeister's series, for the Na salts SO_4> tartrate >Cl>I>SCN (Na_2SO_4 is most active in inducing cyclopic malformations; NaSCN is most effective in inducing enlargement of the notochord). Among the chlorides Li>Na>Mg (LiCl is most active in inducing cyclopia). The ability of these salt solutions to induce cyclopia (or vegetalization) parallels their ability to precipitate colloidal solutions. Accordingly, the more active is a solution in inducing a large notochord (or animalization), the more it is effective in dispersing colloidal solutions[10]. This conclusion stresses the idea that changes in embryonic determination are induced by a direct action of the ions on the proteins of embryonic protoplasm.

Total extracts in 1 m KCl of embryos or eggs of the frog and fractions containing euglobulin *a*, euglobulin *b* or pseudoglobulin show a decrease in viscosity when treated with NaSCN at the concentration inducing hyperdevelopment of the notochord. The same effect is induced by NaI and pyocyanine, which are also able to induce hyperdeveloped notochord. On the contrary LiCl and all the salt solutions which are able to produce monsters of the cyclopic series induce an increase in viscosity of these extracts. Extracts containing globular shaped particles (euglobulin *c*), show an increase in viscosity when treated with NaSCN, NaI or substances inducing cyclopia[1].

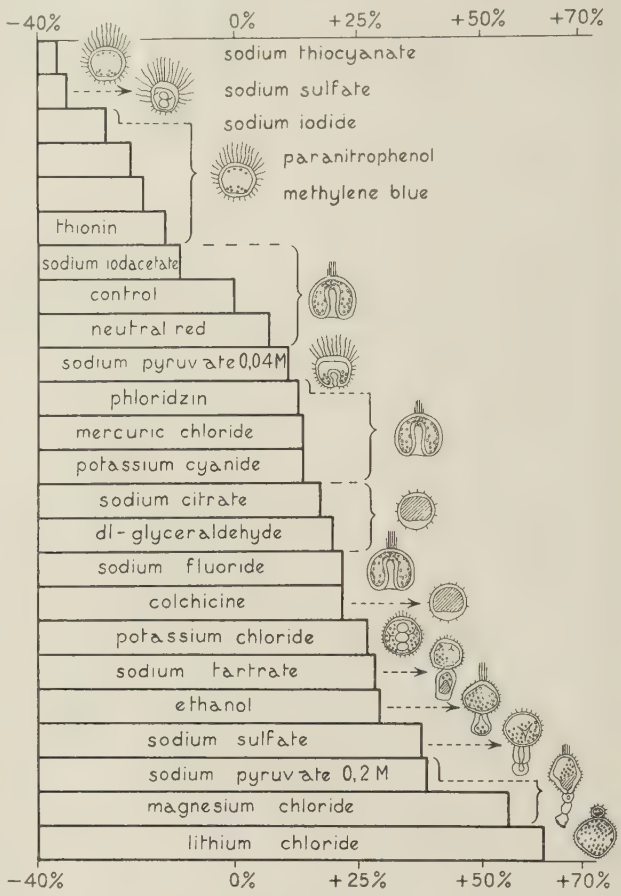


Fig. 4. – Scheme of the action of some substances on the viscosity of euglobulin *a* + *b* solutions of sea urchin eggs. The specific viscosity in presence of the mentioned substances is represented by rectangles. The larvae, obtained by the action of these substances, are represented at the right side. The base of the rectangle is the specific viscosity; that is conventionally indicated as zero for the control. Bases show the change in per cent of the viscosity corresponding to each substance. Good animalization is obtained for a decrease in viscosity above 14 per cent and good vegetalization for an increase in viscosity above 28 per cent (from Arosio, Citterio, Ranzi, and Tosi, 1949).

The same holds true for the proteins extracted from sea urchin eggs (fig. 4)[2]. The substances inducing animalization are able to induce a decrease in viscosity of the solutions containing fibrillar shaped proteins. The substances inducing vegetalization are able to induce an increase in viscosity of the same proteins. NaSCN, NaI, methylene blue, thionin, paranitrophenol, and under some circumstances Na_2SO_4 are animalizing agents. On the contrary LiCl, $MgCl_2$, Na-tartrate (neutral), ethanol and, under some circumstances, Na_2SO_4 are vegetalizing agents. KCl colchicine, Na-citrate, *d,l*-glyceraldehyde induce a slight vegetaliza-

[1] S. Ranzi, Pubb. Staz. Zool. Napoli *9*, 81 (1928). – C. P. Raven, Biol. Rev. *23*, 333 (1948).

[2] P. E. Lindahl, Acta Zool. *17*, 179 (1936).

[3] The statistic figures of hyperdevelopment of notochord in *Rana esculenta L.* (Corti unpublished) expressed as number of nuclei at tail bud stage are:

	50 embryos untreated: controls	50 embryos treated with 0·05 m NaSCN
Average number of nuclei in the notochord	1107	1233
σ	±172	±202
Difference in the means	126	
$\sigma_{\bar{d}}$	$\pm\sqrt{\frac{172^2}{50}+\frac{202^2}{50}}=\pm 37$	
Per cent increase of the number of nuclei induced by NaSCN	11·4	

[4] S. Ranzi, Nature *155*, 578 (1945).

[5] S. Ranzi, Boll. Soc. ital. Biol. sper. *19*, 68 (1944).

[6] E. Tamini, Rend. R. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *76*, 363 (1943).

[7] E. Tamini, Roux'Arch. *142*, 455 (1943).

[8] E. Tamini, Monit. Zool. ital. *52*, 81 (1941).

[9] S. Ranzi, Naturwiss. *30*, 329 (1942).

[10] S. Ranzi, Boll. Soc. ital. Biol. sper. *18*, 218, 314 (1943).

[1] R. Arosio, P. Citterio, P. Menotti, S. Ranzi, and F. Semenza, Riv. Biol. *38*, 153 (1946). – P. Citterio and S. Ranzi, Rend. Acc. Naz. Lincei (Sc. Fis.) (8) *7*, 254 (1949).

[2] R. Arosio, P Citterio, S. Ranzi, and L. Tosi, Rend. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *82*, 143 (1949).

tion. $HgCl_2$, Na-iodacetate, phloridzin, NaF, KCN have neither animalizing nor vegetalizing effect. Now, NaSCN, NaI, methylene blue, paranitrophene and thionin, at the concentrations active in animalizing, induce a decrease in viscosity of the solutions of sea urchin eggs' euglobulin $a+b$. LiCl, $MgCl_2$, ethanol and tartrate, at the concentrations active in vegetalizing, induce an increase in viscosity of the solutions of sea urchin eggs' euglobulin $a+b$. On the other hand KCl, colchicine, citrate, dl-glyceraldehyde, at concentrations inducing a vegetalization of low degree induce an increase in viscosity smaller than that induced by LiCl, $MgCl_2$, ethanol, tartrate. $HgCl_2$, iodacetate, phloridzin, KCN, at the concentrations permitting development, induce very small changes in viscosity of the solutions of sea urchin eggs' euglobulin $a+b$. NaF, at the highest concentration permitting normal development, induces an appreciable increase in viscosity of solutions of euglobulin $a+b$; evidently, the permeability conditions of the ion F, which precipitates in presence of Ca, induce the entrance only of a small amount of F into the cells. In the in vitro experiments, the F of the solution acts on the proteins extracted in KCl and after precipitation dissolved in KCl; whereas in the living embryo only a small amount of the F of the solution can act on the cellular proteins. Therefore the two kinds of results do not seem to be comparable. High increase in viscosity is induced by 0·3 m Na_2SO_4; but 0·03 m Na_2SO_4 induces a remarkable decrease in viscosity of the same solutions of euglobulin $a+b$ (fig. 5). Both concentrations are compatible with development, and it is probable that they correspond to the observed animalization and vegetalization.

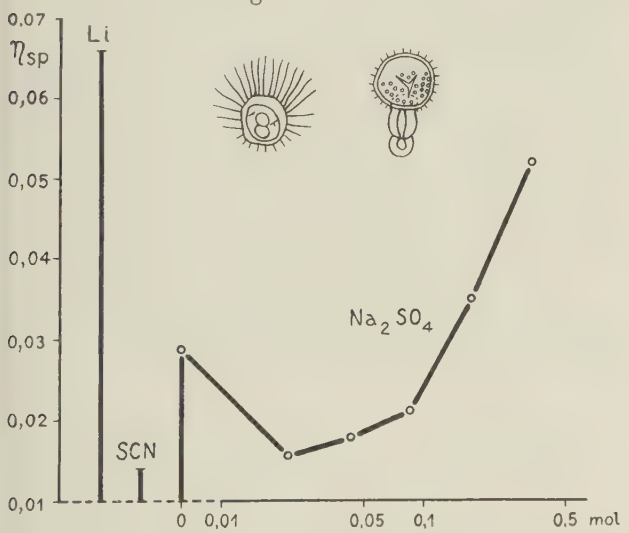


Fig. 5. – Specific viscosity (on the ordinate) of a solution of euglobulin $a+b$ from sea urchin egg for different concentrations of Na_2SO_4 in the solvent (on the abscissa). The two vertical segments on the left side show the viscosity of the solution with Li and SCN. Two larvae one animalized and the other vegetalized by the action of Na_2SO_4, are represented (from Arosio, Citterio, Ranzi, and Tosi, 1949).

Hörstadius[1] was able to induce both animalization and vegetalization of sea urchin embryos with some amino acids. In some experiments carried out with the same method used for analysis of the effect of salts, lysine, an animalizing amino acid, induced a decrease in viscosity of solutions of euglobulin $a+b$. Instead valine, leucine and glutammic acid, vegetalizing substances, induced an increase in viscosity. The results of these experiments seem to point out that amino acids do not act as amino acids as such on the proteic metabolism, which is operative during embryonic determination, but affect proteins through the same mechanism as SCN and Li.

All these reported data show that animalization of sea urchins and hyperdevelopment of the notochord of the Amphibians are produced by substances inducing a decrease in viscosity of fibrillar folded (or fibrillar) proteins extracted from embryos. On the contrary vegetalization of sea urchins and reduction of notochord of the Amphibians are produced by substances inducing an increase in viscosity. A parallel is demonstrated between effect of substances on embryonic proteins and effect on determination. The embryonic proteins, reacting specifically with substances inducing a change in determination, are fibrillar folded (or fibrillar) proteins. The ability of these proteins to react to all the above mentioned substances is due to the shape of their particles. Fibrillar protein extracted from the adult organism reacted in the same way[1]. Consequently the ability of the embryonic fibrillar proteins to react to the tested substances is due to the shape of their particles and not to any other property[2]. The conclusion is that fibrillar shaped proteins preside over the embryonic determination.

Let us now take into consideration the other mechanisms acting in embryonic determination. Sodium pyruvate, at low concentrations, animalizes sea urchin embryos and induces a slight increase in viscosity of the embryonic extracts. Pyruvate appears in the chain of carbohydrate breakdown; its animalizing effect can be interpreted as an influence of carbohydrate metabolism in animal development, in accordance with the idea of the Stockholm school[3]. It seems, however, that changes of the proteins precede the animal metabolic differentiation[4].

The data now referred to, show that the decrease in viscosity induced by SCN and I is related to an irreversible depolymerization of the fibrillar proteins. Therefore it is reasonable to conclude that a depolymerization of fibrillar proteins takes place during determination of the ectoderm of sea urchins and during determination of the notochord of the Amphibians. Such a

[1] S. Hörstadius, Pubb. Staz. Zool. Napoli *21*, (suppl.) 131 (1949).

[1] P. Citterio and S. Ranzi, Rend. Acc. Naz. Lincei (Cl. Sc.) (8) *3*, 150 (1947).

[2] S. Ranzi, Exp. Cell Research, Suppl. *1*, 555 (1949).

[3] P. E. Lindahl, Quart. Rev. Biol. *17*, 213 (1942).

[4] R. Arosio, P. Citterio, S. Ranzi and L. Tosi, Rend. Ist. Lombardo Sc. e Lett. (Cl. Sc.) *82*, 143 (1949).

conclusion is in agreement with the results of Yamada[1], who, treating ventral blastoporal lip with a higher p_H, was able to induce notochord formation; the high p_H depolymerizes the embryonic $a + b$ fraction of euglobulin, as will be discussed later.

The electron microscope pictures of actomyosin treated with Li[2], show piling up threads. It is not impossible that such a transformation inhibits the depolymerization and stops the formation of the ectoderm in sea urchin and the formation of the notochord in Amphibians.

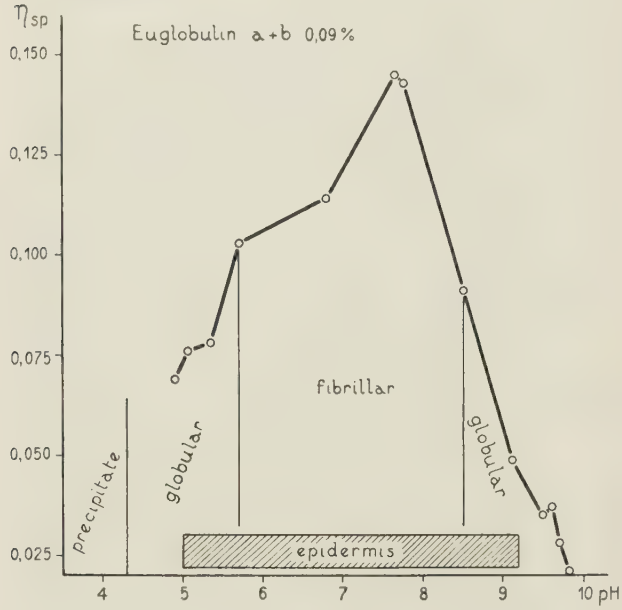


Fig. 6. – Viscosity of a solution of euglobulin $a + b$ from frog embryos at several p_H values. At the different p_H values, the shape of protein particles is indicated as it appears by the viscosimetric method. The shaded rectangle corresponds to the p_H values permitting the development of the ectoderm in epidermis according to Holtfreter. At lower and higher p_H values neural formations are evocated (from Citterio and Ranzi, 1949).

The interpretation of the transformations induced by Li and SCN is in accordance with the changes in viscosity induced by Li and SCN in eggs of sea urchins. Unfertilized eggs of sea urchins, when centrifuged after being submitted to treatment with LiCl, show less tendency to stratify than the untreated eggs. On the contrary eggs treated with NaSCN show higher tendency to stratify[3].

[1] T. Yamada, Biol. Bull. *98*, 98 (1950).
[2] S. Ranzi, Nature *160*, 712 (1947).
[3] S. Abruzzese Sgarlata, Ric. Sc. e Ric. *17*, 473 (1947).

Finally, as to the evocation of the nervous system in Amphibia, it is well known that nervous system is induced by underlying structures. Holtfreter[1] has shown that nervous differentiation can be obtained from presumptive ectoderm of *Triturus* by treating it with a solution of p_H values lower than 5·0 or higher than 9·2. Between these two values of p_H, presumptive epidermis develops into epidermis. At p_H values lower than 5·7, or higher than 8·5, the fibrillar folded euglobulin $a + b$ is depolymerized into globular particles (fig. 6). It seems that the nervous differentiation in the experiments of Holtfreter corresponds to a depolymerization of fibrillar shaped proteins. In this depolymerization, the reaction of the presumptive neural cells to the evocating influence can be seen[2].

Riassunto

Trattando una soluzione di una proteina globulare con un leggero agente denaturante (p. e. 0,05 mol. KSCN nella soluzione totale), si osserva un aumento di viscosità rispetto al campione controllo. Se si fa la stessa cosa con una soluzione di una proteina a particelle filamentose si osserva una diminuzione di viscosità (fig. 1). Questo metodo è più sensibile della birifrangenza di flusso perchè può essere usato a concentrazioni più diluite. Dalla comparazione tra il metodo viscosimetrico e la birifrangenza di flusso si possono distinguere quattro forme di particelle proteiche (vedi tabella). 1° Particelle globulari (es. emoglobina); 2° Particelle che in certe condizioni appaiono globulari in altre filamentose (es. euglobulina b dell'embrione); 3° Particelle filamentose (es. actomiosina); 4° Particelle a graticciata (es. timonucleoistone rigido). Le ultime tre sorta di particelle possono venir rotte in più piccole unità che coi nostri metodi appaiono globulari; queste unità sono tenute insieme da legami rotti per azione di ioni imbibenti e pertanto non da legami peptidici.

Durante lo sviluppo embrionale alcuni processi sono accompagnati da trasformazione di proteine filamentose. Così la determinazione dell'ectoderma dei ricci di mare, quella della corda di Anfibi e Ciclostomi, l'induzione del tubo neurale degli Anfibi appaiono accompagnati da depolimerizzazione di proteine filamentose, mentre la determinazione dell'entoderma dei ricci di mare sembra accompagnata da un ammassamento di queste proteine. Questi dati ci portano alla conclusione che proteine, che possono presentarsi in forma filamentosa, hanno un ruolo di primo piano nella determinazione embrionale.

Sono anche state studiate le trasformazioni delle diverse frazioni proteiche nel corso dell'accrescimento della rana e del pollo.

[1] J. Holtfreter, J. exp. Zool. *106*, 197 (1947).
[2] P. Citterio and S. Ranzi, Rend. Acc. Naz. Lincei (Sc. fis.) (8) *7*, 254 (1949).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

On the Theory of Electrolytic Polishing

In his original paper on the discovery of anodic polishing, JACQUET[1] put forward a theory to explain the mechanism of the process, based on an Ohm's law resistance of the anode diffusion layer. Three years later, ELMORE[2] modified this explanation to the extent that the rate of diffusion of the dissolved anode material into the eletrolyte, and not the Ohm's law resistance, is the main factor. On critical examination of these two theories, and comparison with experiment, the present author[3] found both to be unsatisfactory.

In a systematic study of the phenomenon of electrolytic polishing of copper in phosphoric acid, the author was able to isolate the anode diffusion layer and determine its physical properties[4]. The coefficient of relative viscosity was almost 30 (water = 1). The new theory put forward is based on this high coefficient of viscosity.

In crossing the very highly viscous diffusion layer the phosphate ions aiming at hills on the surface of copper would have a shorter distance to travel than their companions which have to reach the valleys.

When a phosphate ion of velocity u moves through an electrolyte of viscosity η, under the influence of a potential gradient f, than according to Stokes' Law

$$f = 6\,\pi\,\eta\,bu$$

where b is the radius of the phosphate anion.

It is quite clear from this relation that due to the very high viscosity of the diffusion layer[4], the ions move more slowly in crossing it than they do in moving through the bulk of the phosphoric acid, and indeed very much more slowly than they would do in a dilute solution. Again Stokes' Law shows that the ionic velocity is higher, the higher the potential gradient.

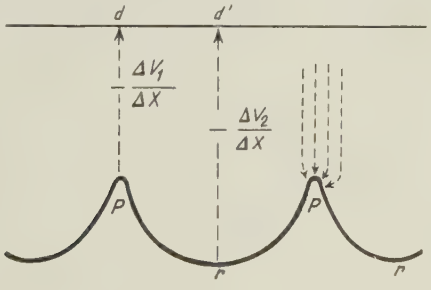


Fig. 1.–Schematic representation of the polishing effect

$$\text{Field intensity At "}P\text{"}\ I_1 = -\frac{\Delta V_1}{\Delta X}$$

$$\text{Field intensity At "}r\text{"}\ I_2 = -\frac{\Delta V_2}{\Delta X}\quad I_1 \gg I_2$$

A heavily etched anode surface is non-homogeneous, containing projections p and recesses r (fig. 1). During electrolysis there will be local differences of electric field intensity corresponding to these nonhomogenities, and the electrical density will be much greater on the projections. It follows, therefore, that the potential gradient across the diffusion layer (in a direction normal to the mean surface) is much higher at the projections than the recesses or:

$$\frac{\Delta V_1}{\Delta X} \gg \frac{\Delta V_2}{\Delta X}$$

The existence of a higher potential gradient along pd means a higher velocity of phosphate ions migrating in this direction. The higher intensity of the field at p, moreover, results in an attraction of a certain fraction of anions which would normally have discharged at r, were the field normally distributed. This fraction which is deflected from its normal path is higher, the smaller the momentum or the velocity of the anion. As shown above, this damping down of velocity is achieved through the existence of the highly viscous diffusion layer. The net result is a preferential accumulation of phosphate ions at the projections and thus a relatively high probability of copper ions being detached from the lattice and going into solution. The dissolution of the projections results in a levelling effect eventually leading to a highly polished surface.

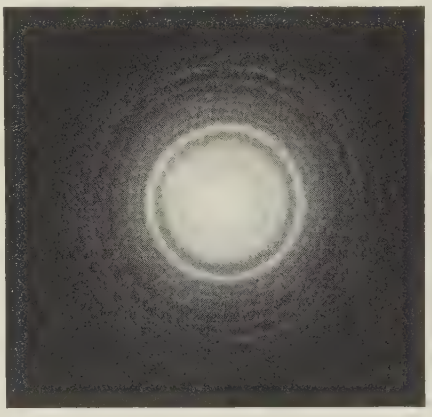


Fig. 2.–Electron diffraction. Pattern of copper phosphate crystallizing out from the diffusion layer.

The above mechanism is supported by the following experimental facts[1].

(1) Most of the electrolytes used for electrolytic polishing are very viscous, ensuring the formation of a highly viscous diffusion layer. Examples of these are phosphoric acid, perchloric acid–acetic anhydride, conc. sulphuric acid, glycerine–phosphoric acid..., etc.

(2) Electrolytic polishing of copper in phosphoric acid is not possible if the viscosity of the electrolyte and that

[1] P. JACQUET, Bull. Soc. chim. France V *3*, 705 (1931).

[2] W. ELMORE, J. Applied. Physics *10*, 727 (1939); *11*, 797 (1940).

[3] M. HALFAWY, Thesis London, 1948; Also Bull. Anal. C. N. R. S. *10*, (I) (1949).

[4] The thickness of the diffusion layer is estimated as 50–100 μ whereas the surface irregularities are of the order of 1 μ.

[1] M. HALFAWY, Thesis London, 1948; Also Bull. Anal. C. N. R. S. *10*, (I) (1949).

of the diffusion layer fall below a certain critical limit either by dilution or by rise of temperature. On the other hand, even if the diffusion layer is much reduced in thickness (e. g. using an anode rotating 16,000 R. P. M.) polishing is still possible a slong as the diffusion layer remains highly viscous, though a much higher current-density is necessary.

Experiment[1] has shown that the diffusion layer consists of a saturated solution of anode dissolution products in the electrolyte used for polishing. In the case of copper in phosphoric acid, the salt which crystallizes out from the diffusion layer is the phosphate ($4CuO \cdot P_2O_5H_2O$), which was identified by measurements on the electron diffraction pattern (fig. 2).

It appears that an electrolyte which produces a polishing effect must be a good solvent for the anode dissolution products to ensure a high viscosity of the diffusion layer. A poor solvent would be quickly saturated with the products of dissolution and the viscosity of the diffusion layer would not be very different from that of the bulk electrolyte. There is also the risk in this case of salt crystallizing out as an insoluble crust on the anode at moderate current densities and stifeling the levelling effect of the current.

The case of copper in phosphoric acid is typical of most electrolytic polishing processes. A different type, however, is exemplified by the electrolytic polishing of silver in cyanide medium. In this case, when the limiting current density is reached, the concentration of CN′ at the anode surface falls to zero, and the maximum rate at which the anode can dissolve to form $[Ag(CN)_2]$ ions is determined by the maximum rate at which the CN′ ions diffuse to the anode from the bulk of the solution. Any attempt to increase the current density results in the formation on the anode of a brown film, which is shown by electron diffraction to be silver cyanide, and not oxide as originally believed by Hedges[2]. The onset of this film is marked by a rise in anode potential, after which a series of oscillations begins and the anode surface displays alternate brown and silver white flashes, during which it becomes more and more bright.

This brown cyanide film functions in place of the highly viscous diffusion layer. It does not conduct the electric current, but it has a fine pored structure. The local differences of electric field intensity corresponding to the non-homogenities of the surface (fig. 1) will attract more CN′ to the projections. As the film is soluble in presence of CN′, the total cross section of the pores over the projecting parts will be augmented[3] (relative to the pore cross section of the recesses). Accordingly less resistance will be offered to the anions trying to penetrate the film at the projections to reach the silver metal surface. The net result will be higher rate of attack at the projections and a polishing effect.

Part of the above work has been carried out in the Applied Physical Chemistry Laboratories, Imperial College, London. The author wishes to thank Professor G. I. Finch, M. B. E, F. R. S. for his interest in the course of this work.

M. Halfawy

Applied Physical Chemistry Laboratory, Institute of Chemical Technology, Farouk University Alexandria, Egypt, August 10, 1950.

[1] M. Halfawy, Thesis London, 1948; Also Bull. Anal. C. N. R. S. *10*, (1) (1949).

[2] E. S. Hedges, J. Chem. Soc. 1533 (1926).

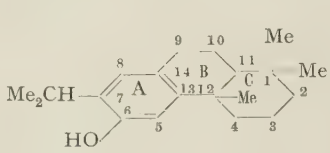
[3] The film grows only thickness until equilibrium is reached between formation and dissolution by the electrolyte.

Zusammenfassung

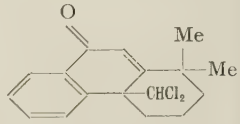
Die vorliegende Theorie betrachtet die elektrolytische Polierung von Metallen als Resultat einer Anreicherung der Anionen an den Spitzen von Unebenheiten der Metalloberfläche. Die Anreicherung kommt dadurch zustande, daß diese Erhebungen eine besonders hohe elektrische Feldstärke aufweisen und deshalb die Anionen bevorzugt anziehen. Dabei sind die Anionen in den viskosen Schichten auf der Metalloberfläche nur wenig beweglich.

Diterpenes; Preliminary Synthetical Experiments

The structure of ferruginol has been shown by degradation to be (I)[1], in which the nature of the ring-fusion B/C is thought to be *trans*[2].



(I)



(II)

This note is concerned with experiments directed toward the synthesis of (I) with *trans* fusion of rings B/C.

Ethyl γ-(4-methoxynaphthyl) butyrate on treatment with methyl magnesium iodide, followed by dehydration of the product, afforded Δ^2-2-methyl-5-(4′-methoxynaphthyl)pentene, b. p. 132–137°C/0·03 mm, which on cyclisation with boron trifluoride in chloroform solution yielded 1:1-dimethyl-1:2:3:4-tetrahydro-9-methoxyphenanthrene, m. p. 59°C. Demethylation of the latter compound with hydrogen iodide furnished 1:1-dimethyl-1:2:3:4-tetrahydro-9-phenanthrol, m. p. 139°C. By an application of the Reimer-Tiemann reaction[3] to 1:1-dimethyl-1:2:3:4-tetrahydro-9-phenanthrol, a dichlormethyl group was introduced into the angular position (C_{12}) to give 1:1-dimethyl-9-keto-12-dichlormethyl-1:2:3:4:9:12-hexahydrophenanthrene (II), m. p. 124°C, in which the 10:11-double bond provides a possible means of stereochemical control of the fusion of rings B/C. Experiments on the hydrogenation of (II) and of the simpler model substances 1-methyl-1-dichlormethyl-2-keto-1:2-dihydronaphthalene, m.p. 66–67°C, and 1-methyl-1-dichlormethyl-4-keto-1:4-dihydronaphthalene, m.p. 106–107°C, derived from 1-methyl-2-naphthol and 1-methyl-4-naphthol respectively by the Reimer-Tiemann reaction, are in progress, and it is hoped that the method will be capable of extension to the synthesis of ferruginol itself. The use of the Reimer-Tiemann reaction to generate the gem-dimethyl group at C_1 is also under examination.

M. S. Gibson

Dyson Perrins Laboratory, Oxford, October 30, 1950.

Zusammenfassung

Es wurde die Anwendung der Reimer-Tiemann-Reaktion zur Einführung von angularen Dichlormethylgruppen in Phenanthrenderivate untersucht mit dem Ziel, Ferruginol synthetisch herzustellen.

[1] C. W. Brandt and L. G. Neubauer, J. Chem. Soc. 1031 (1939). – W. P. Campbell and D. Todd, J. Amer. Chem. Soc. *64*, 928 (1942).

[2] D. H. R. Barton and G. A. Schmeidler, J. Chem. Soc. 1197 (1948).

[3] K. Auwers and G. Keil, Ber. Dtsch. Chem. Ges. *35*, 4207 (1902). – R. Burns Woodward, J. Amer. Chem. Soc. *62*, 1208 (1940).

Isolement d'une nouvelle souche de *Phycomyces*. Etude de ses caractéristiques morphologiques et de ses besoins en facteurs de croissance

Les suspensions de spores utilisées pour ensemencer les milieux de culture sont faites avec des cultures à sporangiophores mûrs ayant crû sur un milieu riche en facteurs de croissance. La population est hétérogène et l'on peut se demander si toutes les spores ont les mêmes potentialités. La question se pose surtout lorsqu'il s'agit d'un organisme ayant perdu le pouvoir de synthétiser un ou plusieurs facteurs de croissance[1]. *Phycomyces blakesleeanus* exige, comme facteur essentiel, l'aneurine (vitamine B_1) qui peut être remplacée par ses deux constituants, la pyrimidine (2-méthyl-4-amino-5-aminométhyl-pyrimidine) et le thiazol (4-méthyl-5-β-oxyéthyl-thiazol) que l'organisme réunit en une molécule d'aneurine[2]. Sur le conseil du Professeur SCHOPFER, nous avons recherché s'il est possible d'isoler à partir d'une population hétérogène, des spores donnant naissance à des thalles dont les besoins en facteurs de croissance seraient différents. Au cours de recherches d'une année, nous avons pu, à partir de la souche «Berne» de *Phycomyces*, que nous apellerons *S1*, isoler une souche *S2* présentant des caractéristiques nouvelles.

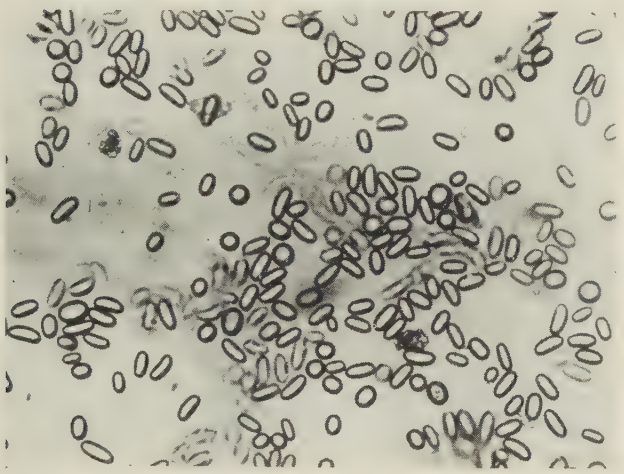


Fig. 1. – Inoculat fait avec la souche *S1*. Contient la spore ellipsoïde et la spore arrondie.

Morphologie de la souche S2

Sur le milieu solide et dans le milieu liquide synthétique, la souche *S2* a toutes les caractéristiques des cultures dites «en boule» décrites pour un mutant d'*Eremothecium ashbyii*[3]. Le thalle ne se répand en aucun cas sur toute la surface offerte. La croissance est beaucoup plus lente et plus localisée que celle de la souche initiale *S1*. La forme de la spore permet de distinguer très exactement la souche *S1* de la souche *S2*. Notre nouvelle souche *S2* produit en grand nombre des spores arrondies bien différentes des spores ellipsoïdes de la souche initiale *S1*. Un examen attentif de l'inoculat *S1* permet de déceler la spore arrondie en quantité très faible parmi les spores ellipsoïdes (fig. 1). Nous avons par une culture monosporée, donnant lieu à un thalle riche en spores arrondies (fig. 2), rendu l'étude physiologique de ce dernier possible. Cet inoculat, pouvant être à son tour hétérogène, est dépouillé des spores ellipsoïdes à croissance rapide. L'origine de ces spores sera étudiée en détail; plusieurs hypothèses peuvent être émises à cet égard.

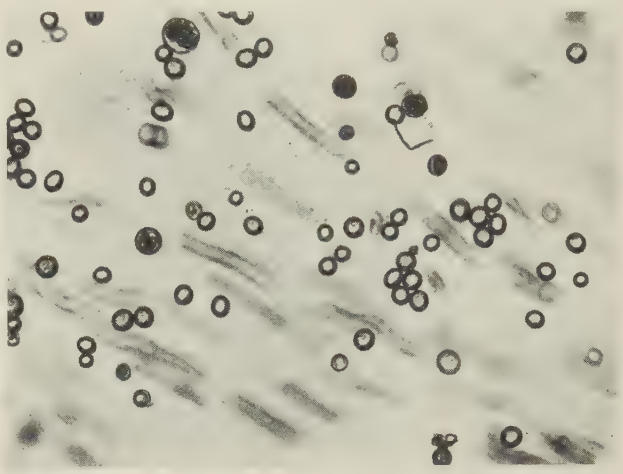


Fig. 2. – Inoculat fait avec la souche *S2*. Contient la spore arrondie.

Physiologie de la souche S2

La nouvelle souche *S2* est caractérisée par une croissance très lente. Elle peut être cultivée sur agar-moût de bière et même sur un milieu liquide synthétique, bien que ces dernières conditions de culture semblent moins favorables. La souche *S2* a quelque peine à former un mycélium émergent.

Pour les cultures en milieu liquide, nous avons utilisé la solution nutritive synthétique de COON modifiée, constituée de glucose 30 g; asparagine 1 g; KH_2PO_4 1,5 g; $MgSO_4$ 0,5 g dans 1000 cm³ d'eau distillée. Les facteurs de croissance (vitamines) sont ajoutés sous forme de moût de bière ou sous forme de substances cristallisées.

Avec le milieu cité et une adjonction de 1 cm³ de moût de bière par culture (ERLENMEYERS de 150 cm³ avec 25 cm³ de milieu) nous obtenons après 7 jours un poids sec de 66 mg pour la souche *S1* alors que la souche *S2* produit un thalle de 8,33 mg. Ces différences s'égalisent. Au 21e jour de culture, nous obtenons pour *S1* 76,6 mg et pour *S2* 91,3 mg. La récolte optimale se place au 10e jour pour la souche *S1* alors que pour la souche *S2* il faut attendre le 25e jour environ. Nous avons étudié les besoins en facteurs de croissance de la souche *S2* et nous les avons comparés à ceux de la souche *S1*. La souche initiale *S1* réagit à l'aneurine (vitamine B_1) et au mélange pyrimidine + thiazol (P + T). La pyrimidine (P) seule et le thiazol (T) seul, n'ont pas d'action sur la croissance. La nouvelle souche isolée *S2* réagit différemment à ces facteurs (fig. 3).

Dans des conditions de culture données la souche S2 se développe sur le milieu ne contenant que la pyrimidine. L'action est quantitative. Le mélange P + T est actif ainsi que l'aneurine. Le thiazol doit être synthétisé dans une grande proportion par le thalle car son action comme facteur exogène est très faible. Il est possible que l'âge de la culture utilisée pour préparer l'inoculat joue un rôle. Des variations dans la réaction à la pyrimidine de la souche S2 le laissent prévoir. Ce problème est à l'étude.

[1] W. H. SCHOPFER, Arch. Mikrobiol. *5*, 511 (1934).
[2] W. H. SCHOPFER, Bull. Soc. bot. Suisse *47*, 460 (1937).
[3] W. H. SCHOPFER, Rev. Suisse Path. et Bactériol. *8*, 521 (1945).

Ces recherches ont été effectuées avec l'aide de la «Fritz-Hoffmann-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz» que nous remercions vivement.

M. A. Roulet

Institut et jardin botaniques de l'Université de Berne, le 9 février 1951.

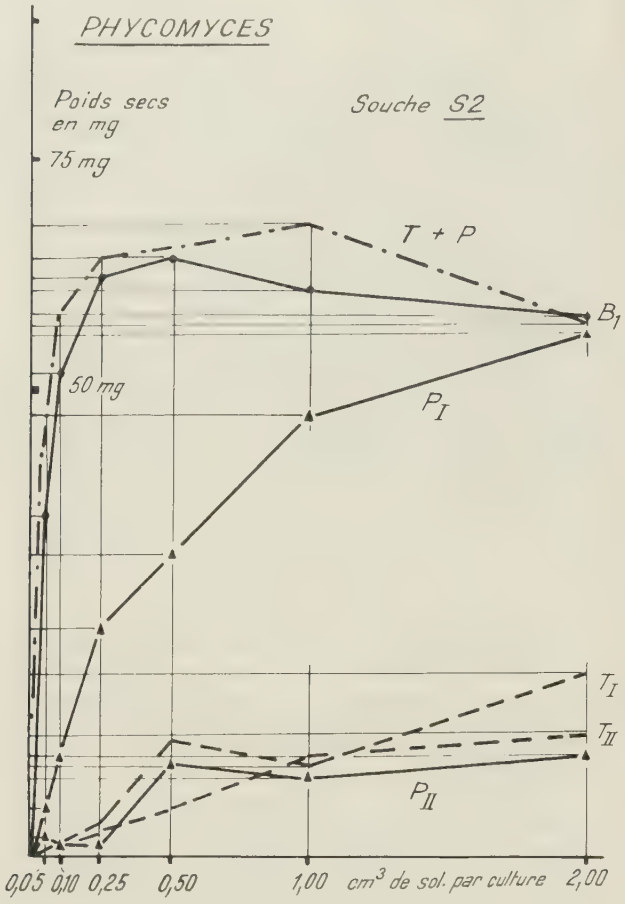


Fig. 3. – Action de l'aneurine (B_1), du mélange pyrimidine et thiazol (P + T), du thiazol (T) et de la pyrimidine (P) sur la souche *S2*.
Courbe T + P, B_1, T_{II}, P_{II}: Solution à 1 γ/cm³
Courbe P_I, T_I: Solution à 25 γ/cm³

Summary

Starting from a strain of *Phycomyces* «Berne» used at the Botanical Institute, we have isolated, with the aid of one-spore cultures, a new strain *S 2*, the morphology and physiology of which are different from those of the original strain. Under definite conditions of culture, pyrimidine added to a synthetic medium is sufficient as an exogenous growth-factor. The *S 2* strain is characterized by a rounded spore and by a type of growth called "ball-like". The morphological differences between the ellipsoid spore of strain *S 1* and the rounded spore of strain *S 2* are constantly accompanied by an essential difference in the power of synthesis of the two strains described.

Isolement sexuel entre deux souches de *Drosophila melanogaster*

Les premiers travaux expérimentaux sur la génétique des populations[1] ont été basés sur l'hypothèse que les croisements entre les différents individus d'une population de Drosophiles ont lieu au hasard. Mais depuis, un certain nombre d'auteurs, parmi lesquels Patterson[1] et Dobzhansky[2], ont montré qu'il n'en est pas toujours ainsi et que, dans certains cas, on observe un isolement sexuel entre différentes races à l'intérieur de plusieurs espèces de Drosophiles.

Matériel et techniques. Nos expériences ont porté sur deux souches isogénéisées de *Drosophila melanogaster*, «+*Oregon R–C*» et «*vermilion*», mises à ma disposition par M. B. Ephrussi. Dans chaque expérience un certain nombre de ♀♀ vierges de la race «*v*», âgées de 12 à 24 heures, se trouvent pendant 40 heures dans une cage à population (L'Héritier et Teissier[3]) en présence d'un nombre variable de ♂♂ de type sauvage «+» et de ♂♂ «*v*». Après ce contact les ♀♀ sont isolées et mises dans des tubes de culture. Le recensement de leur ponte individuelle permet de déduire le ou les types d'accouplements qui ont eu lieu. Ainsi, il est possible de classer, *a posteriori*, ces ♀♀ en 3 catégories décrites ci-dessous, d'après leur ponte.

	P	F_1
A:	♀ *v*/*v* × ♂ *v*	♀♀ *v*/*v*, ♂♂ *v* .
B:	♀ *v*/*v* × ♂ +	♀♀ *v*/+, ♂♂ *v* .
C:	♀ *v*/*v* × ♂ *v* et ♂+	♀♀ *v*/*v*, ♀♀ *v*/+, ♂♂ *v*.

On peut calculer la fréquence théorique des accouplements à partir du nombre relatif des 2 catégories de ♂♂ mis en présence des ♀♀ dans la cage à population. La comparaison entre cette fréquence théorique et celle observée suffit pour montrer s'il y a eu accouplement préférentiel ou non. Le calcul est donc immédiat en ce qui concerne les ♀♀ du type A et du type B. Pour ce qui est des ♀♀ ayant été fécondées par les deux catégories de ♂♂ à la fois, nous les avons incluses dans les calculs en les ajoutant, par moitié, aux deux types A et B. De cette manière le nombre absolu des ♀♀ identifiées comme ayant donné une descendance de l'un ou de l'autre des types de ♂♂ en présence correspond au nombre effectif des ♀♀ testées.

Le facteur d'isolement sexuel correspond donc, en fin de compte, à l'excédent du nombre des ♀♀ qui se sont accouplées avec les ♂♂ d'un des types sur le nombre théorique. Ce facteur est exprimé en fréquence pour ce qui concerne «*v*» par la formule suivante:

$$f = \frac{A + \frac{1}{2}C}{A + B + C} - \frac{n \text{ de } ♂♂\ v}{n \text{ total de } ♂♂}$$

Résultats obtenus et discussion. 1° La majorité des expériences, dont les résultats sont groupés dans le tableau ci-contre, montre clairement un plus grand nombre d'accouplements entre les ♀♀ *v*/*v* et les ♂♂ du même génotype, qu'entre ces ♀♀ et les ♂♂ +. Donc l'isolement sexuel, ou une certaine tendance à l'homogamie, joue en faveur du gène «*v*».

2° La proportion de ♀♀ et de ♂♂ en présence est importante pour l'ampleur que prend l'isolement sexuel. Le facteur varie en fonction de la proportion des deux sexes. C'est avec le nombre relatif de ♀♀ et de ♂♂ que change pour les ♀♀ la possibilité de choisir parmi les deux types de ♂♂ et pour le type de ♂♂ qui est plus vigoureux la possibilité d'agir plus vite que l'autre. Il semble donc qu'il y ait deux phénomènes qui produisent l'isolement sexuel. D'une part la préférence des ♀♀ «*v*» pour les ♂♂ «*v*» et d'autre part la plus grande activité sexuelle des ♂♂ «*v*».

[1] G. Teissier et Ph. L'Héritier, C. r. Soc. biol. *124*, 882 (1937).

[1] J. T. Patterson, Univ. Tex. Publ. *4720*, 7 (1947).
[2] Th. Dobzhansky et E. Mayr, Proc. Nat. Acad. Sci. *30*, 238 (1944).
[3] Ph. L'Héritier et G. Teissier, C. r. Acad. Sci. *197*, 176 (1933).

Facteurs d'isolement sexuel entre les souches «+*Oregon R–C*» et «*vermilion*» de *Drosophila melanogaster*

Exp.	*n* des mouches dans les cages		*n* des ♀♀ «*v*»	♀♀ en %	♀♀ non fertiles	proportion ♂♂ «*v*»:«+»	*n* d'accouplements du type			Facteurs d'isolement pour le gène «*v*»		Moyennes des expériences identiques	
	total	♂♂					A	B	C				
33[1]	1748	1661	87	5	5	4: 1	63	14	5	−0,0012		−0,0012	
11	2579	2450	129	5	6	1: 1	77	23	9	+0,2477	±0,0416	+0,2477	±0,0416
14	1392	1182	210	15,1	12	46:54	109	57	27	+0,1710	±0,0347	+0,1744	±0,0246
6	1200	1000	200	16,7	8	1: 1	88	23	69	+0,1778	±0,0348		
1	1446	1013	433	29,9	0	37:63	63	66	22	+0,1248	±0,0407	+0,1071	±0,0226
38	1167	817	350	30	30	1: 9	48	225	12	+0,0895	±0,0232		
19	692	346	346	50	24	1: 1	146	94	61	+0,0864	±0,0284		
5	1060	530	530	50	30	1: 9	50	307	55	+0,0882	±0,0193	+0,0877	±0,0145
2	1220	600	620	50,8	65	5: 1	405	22	27	+0,0885	±0,0126		
29	477	191	286	60	47	1: 9	12	197	5	−0,0322	±0,0172	−0,0114	±0,0233
30	500	200	300	60	35	9: 1	223	20	5	+0,0093	±0,0182		
13	728	218	510	70,1	17	1: 1	208	214	47	−0,0060	±0,0231	+0,0178	±0,0182
28	500	150	350	70	45	1: 1	138	114	36	+0,0417	±0,0294		
7	600	100	500	83,2	96	1: 1	175	177	13	−0,0028	±0,0262	−0,0028	±0,0262
12	526	26	500	95	366	1: 1	62	42	0	+0,0960	±0,0481	+0,0858	±0,0357
26	440	22	418	95	308	1: 1	49	36	1	+0,0756	±0,0533		
32[2]	680	34	646	95	178	1: 1	145	175	39	−0,0418	±0,0267	−0,0124	±0,0197
39[2]	526	26	500	95	142	1: 1	137	127	24	+0,0173	±0,0295		

[1] Femelles mises endormies dans les cages, empêchées de choisir parmi les mâles.

[2] Femelles et mâles maintenues 120 heures (au lieu de 40 heures) dans les cages.

Ainsi la diminution du facteur d'isolement de 0,24 à des valeurs voisines de 0 et la recrudescence à 0,08, suivant l'augmentation de la proportion des ♀♀ de 5 à 95% s'explique assez facilement. Quand il y a une très forte proportion de ♂♂, les ♀♀ peuvent choisir efficacement et en même temps les ♂♂ qui sont plus actifs ont un avantage, car il est permis de supposer qu'il y a un certain nombre dé ♀♀ qui ne choisissent pas. Les deux phénomènes se superposent dans les populations avec un fort pourcentage de ♂♂. C'est pourquoi on y trouve les facteurs d'isolement les plus forts. Quand la concurrence des ♂♂ est plus faible, le choix des ♀♀ moins grand, le facteur devient petit. Il oscille autour de 0 pour les proportions de 60 à 80% de ♀♀. Bien que dans ces populations les 20 à 40% de ♂♂ fécondent presque toutes les ♀♀, il n'y en a pas assez pour que les ♀♀ puissent choisir. D'autre part les ♂♂ ne fécondent en moyenne qu'une ou deux, rarement trois ♀♀. Si un des deux types de ♂♂ est plus actif que l'autre, l'influence n'en sera pas considérable, le nombre de ♀♀ à féconder par un seul ♂ n'étant pas assez grand. Dans les expériences n° 12 et n° 26 les quelques ♂♂ présents n'arrivent plus à féconder toutes les ♀♀. Plus que la moitié d'entre elles sont infertiles. Bien qu'il n'y ait, très probablement, aucun choix des ♀♀, le facteur d'isolement atteint de nouveau plus de 0,08. On peut interprêter ce résultat inattendu par l'hypothèse d'une activité sexuelle plus forte des ♂♂ «*v*».

3° Afin de comparer la signification statistique des résultats obtenus, et en partant de notre hypothèse de travail, nous avons établi l'erreur d'échantillonnage commise en nous servant de la formule suivante:

$$\sigma = \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

dans laquelle p représente le nombre observé de fécondations du type A, en fréquence, q le nombre observé de fécondations du type B, en fréquence, et n le nombre total de ♀♀ fécondées.

Le facteur d'isolement est statistiquement significatif pour les populations avec 5, 15, 30 et 50% de ♀♀, tandis qu'il ne l'est plus pour les populations avec 60 et jusqu'à 95% de ♀♀. La différence entre les facteurs d'isolement des populations avec 5 et 30% de ♀♀ est statistiquement significative, ainsi que les différences entre les facteurs correspondant à 15 et 50% de ♀♀, 50 et 60% de ♀♀ et naturellement aussi entre 5 et 50% de ♀♀.

4° Dans les expériences n° 12 et n° 26 un ♂ «*v*» a fécondé en moyenne 4,6 ♀♀, un ♂ «+» seulement 3 ♀♀. Quand on laisse les ♀♀ et les ♂♂ pendant 5 jours dans la cage à population, la différence considérable dans l'activité sexuelle des deux types de ♂♂ s'atténue. Deux expériences de ce genre (n° 32 et n° 39) ont montré qu'en moyenne un ♂ «*v*» arrive à féconder en 5 jours 10,5 ♀♀ un ♂ «+» 11,1 ♀♀. Il est très vraisemblable que cette différence n'est pas significative.

5° L'influence de la proportion des deux types de ♂♂ a surtout été étudiée dans les 3 expériences n^{os} 2, 5 et 19, qui donnent sensiblement le même facteur, bien que la proportion des ♂♂ varie de 5:1 à 1:9 et 1:1. D'autre part les expériences n° 1 et n° 38, ainsi que n^{os} 29 et 30 semblent montrer que la tendance à l'isolement en faveur de «*v*» est moins forte quand le nombre des ♂♂« *v*» est beaucoup plus petit que celui des ♂♂ «+». Mais la différence des deux facteurs des populations n^{os} 1 et 38 et des populations n^{os} 29 et 30 n'est pas significative.

Conclusions. Il semble bien établi qu'un isolement sexuel favorise le gène «*v*» dans les conditions dans lesquelles nous avons opéré. Mais la vigueur relative des deux types de ♂♂ peut influencer considérablement les croisements.

Ce travail a été effectué grâce à une bourse du Centre national de la Recherche scientifique. Je remercie vivement la direction du C.N.R.S. et Monsieur le Professeur G. Teissier de m'avoir accueilli dans son laboratoire, de l'intérêt avec lequel il a suivi ce travail et des nombreux et précieux conseils qu'il m'a donné.

E. Bösiger

Laboratoire de Génétique évolutive du C. N. R. S. (Sorbonne), Paris, le 10 octobre 1950.

Zusammenfassung

Es wird zwischen zwei Stämmen von *Drosophila melanogaster* («+*Oregon R–C*» und «*vermilion*») geschlechtliche Zuchtwahl zugunsten des Gens «*v*» festgestellt. Der Faktor der sexuellen Isolation variiert gesetzmäßig mit der Proportion von ♀♀ und ♂♂ in der Population.

On the Eye Cup–Lens Correlation in some South African Amphibians

During the breeding season of 1949 I had the opportunity of studying the lens development in six South African toads and frogs. To test the ability of the epidermis to produce a lens independently of the eye cup, I excised with a glass needle the eye-forming region of the neural plate. An attempt was made not to remove the roof of the archenteron underlying the neural plate, but this was not always successful. The operated embryos were fixed and sectioned in the early tadpole stage when the normal lens had already been formed. The following table shows the results of the experiments.

Species	No. of operations	Successful (Eyes absent or small and isolated from the skin	Lens pres. in spite of absence of eye cup
Rana angolensis (Bocage) . .	3	2	2
Pyxicephalus natalensis Smith	15	8	0
Phrynobatrachus natalensis (Smith)	5	3	0
Bufo regularis Reuss	8	8	0
Bufo carens Smith	6	6	0
Xenopus laevis (Daud) . . .	17	9	5

Of the five lenses found in *Xenopus laevis* two have distinct lens fibres (fig. 1). The lenses are large, though smaller than the normal lenses of controls. In the three remaining cases the lenses are less developed, show no traces of fibre differentiation, and resemble early lens rudiments in the stage when they have just been separated from the epidermis and rounded off. The mechanism of lens development in *Xenopus laevis* conforms therefore to that found in *Rana esculenta* which had so far been known as the only example of a far-reaching "independent" lens development (see literature cited in Mangold, Spemann, Needham[1]).

The two rudiments found in *Rana angolensis* are very small spherical bodies consisting of but a few cells without specific differentiation. This species conforms to the type of development found in *Bombinator pachypus–Rana fusca*. The rest of the species investigated belong to the Triton type of lens development.

A further similarity between *Xenopus laevis* and *Rana esculenta* (as investigated by Spemann) lies in the size relationships between the eye cup and the lens. In a number of cases the eye rudiments were not totally removed, and small eyes were therefore found to have developed. In *Xenopus laevis* in such cases the lenses are invariably out of proportion to the eye-cup (fig. 2). I have compared the relation in size between the eye cup and lens in two species, *Xenopus laevis* and *Pyxicephalus natalensis*, by drawing every section of the eye cup and lens on cardboard, cutting the drawings out and weighing them. Unoperated as well as operated eyes have been treated in this way, and figures 3 and 4 show the results obtained.

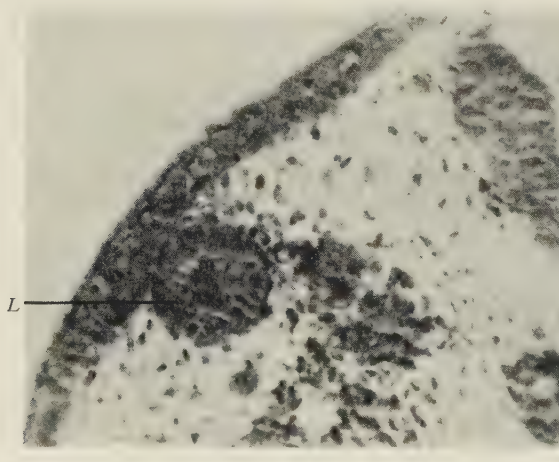


Fig. 1.–*Xenopus laevis*. Lens (*L*) which developed after complete removal of the eye cup in the neurula stage.

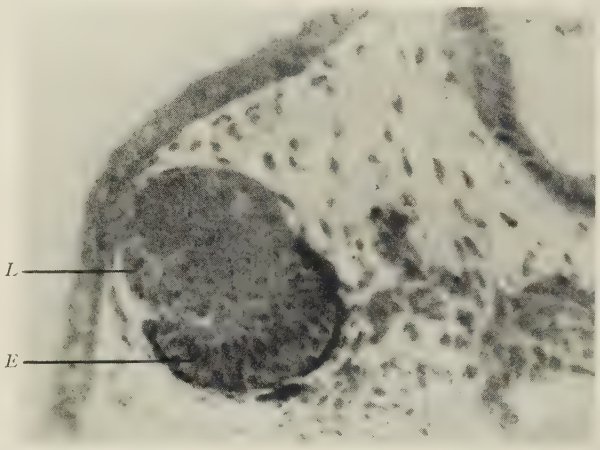


Fig. 2.–*Xenopus laevis*. Disproportionate development of the lens (*L*) after partial removal of the eye cup rudiment in the neurula stage. *E* = diminished eye cup.

The graphs clearly show a difference between the two species: whereas in *P. natalensis* there is an approximately rectilinear relationship between the size of the eye and of the lens, in *X. laevis* the curve representing the relation of lens size to eye cup size rises very sharply at first and approaches a horizontal later. To test the data statistically it is not convenient to operate with the volumes of eye cup and lens owing to the curvilinear regression in the case of *X. laevis*. It was found however that the relation of Log. lens volume/Log. eye cup volume is rectilinear in both species. Accordingly the regression of the logarithms of lens and eye cup was calculated. The cases with a zero value for either eye or lens had, of course, to be omitted.

For *X. laevis* the regression coefficient (b) was found to be 0·21 with standard deviation (s_b) = 0·035, in *P. natalensis* b = 0·79 with s_b = 0·258. The difference between the regression coefficients is 0·57 with standard deviation of 0·261. As the difference between the two regression coefficients divided by the standard deviation of the difference follows the t distribution, we find t = 2·186, which for 18 degrees of freedom corresponds to a probability level of approximately 0·05. The difference is therefore significant, and this proves that the dependence of lens size on the eye cup size is of a different type in the two species. Setting the fiducial limits at the probability level of 0·05 in *X. laevis* we obtain the values of 0·14 and 0·29. It is very obvious, therefore, that the regression of lens volume on eye cup volume (without logarithmic transformation) is curvilinear, as a

[1] O. Mangold, Ergebn. Biol. 7, 193 (1931). – J. Needham, *Biochemistry and Morphogenesis* (Cambridge University Press, 1942). – H. Spemann, *Experimentelle Beiträge zu einer Theorie der Entwicklung* (Julius Springer, Berlin, 1936).

rectilinear regression of volumes would, in logarithmic transformation, become a regression with a coefficient = 1. A coefficient of 0·79 for the logarithmic regression in *P. natalensis* implies a slight curvilinearity of the volumes' regression. However the sampling errors in this species are rather high, and the fiducial limits set at $P = 0{\cdot}05$ overlap the unity value. If the true regression coefficient were actually unity, it would signify that the inherent properties of the epidermis from which the lens rudiment is derived play no part in determining the size of the lens in *Pyxicephalus natalensis*.

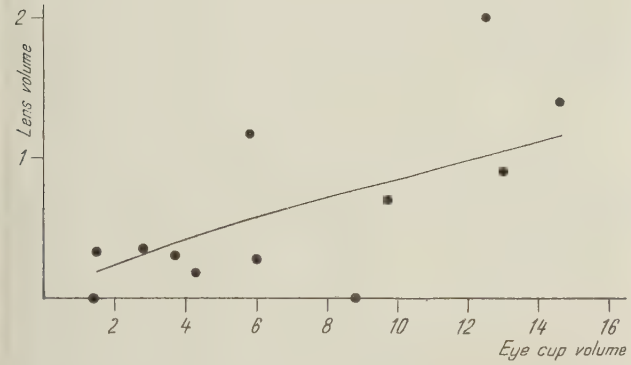


Fig. 3.–Shows regression of lens size on eye cup size in *Pyxicephalus natalensis*. The lens volume (in grams of the cardboard reconstruction) is plotted against eye cup volume. The approximated curve has been derived by fitting the rectilinear regression of Log. lens/Log. eye cup by the method of least squares.

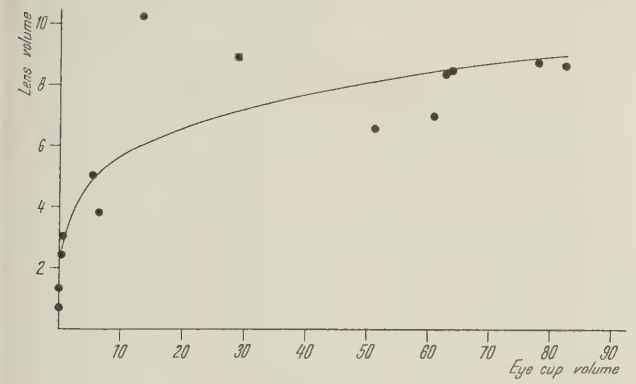


Fig. 4.–Shows regression of lens size on eye cup size in *Xenopus laevis*. The lens volume (in grams of the cardboard reconstruction) is plotted against eye cup volume. The approximated curve has been derived by fitting the rectilinear regression of Log. lens/Log. eye cup by the method of least squares.

My experiments do not give any new indications as to what causes the differences in the comportment of the lens rudiment in the various species of Amphibians. In connection with Ten Cate's paper[1] it must be stated, however, that the eggs of *Xenopus* were not cooled before the operation. A general conclusion which can be drawn from the experiments reported here is that specific differences in the mechanism of lens development do actually exist.

B. I. Balinsky

Department of Zoology, Witwatersrand University Johannesburg (South Africa), September 25, 1950.

Zusammenfassung

Das Verhalten des linsenbildenden Materials nach Exstirpation der Augenbecheranlage im Neurulastadium ist bei den sechs untersuchten Arten verschieden. Bei *Pyxicephalus natalensis* Smith, *Phrynobatrachus natalensis* (Smith), *Bufo regularis* Reuß und *Bufo carens* Smith wird kein Linsenrudiment gebildet. Bei *Rana angolensis* (Bocage) wurden kleine rundliche, undifferenzierte Zellhaufen gefunden. Bei *Xenopus laevis* (Daud) haben sich zweifellos Linsen entwickelt mit Faserndifferenzierung in den besten Fällen. Nach unvollständiger Beseitigung der Augenbecheranlage waren die Linsen bei der letztgenannten Art viel zu groß für den verkleinerten Augenbecher. Bei *Pyxicephalus natalensis* dagegen war die Linsengröße der Augenbechergröße proportional. Eine statistische Behandlung der Angaben hat gezeigt, daß die Regression der Linsengröße zur Augenbechergröße bei diesen zwei Arten eine signifikant verschiedene Form hat. Der Mechanismus der Linsenentwicklung bei *Xenopus laevis* ist demjenigen bei *Rana esculenta* ähnlich.

Veränderungen der Kerngrößen bei Molchlarven nach Amputation und Narkose[1]

Gut vergleichbare, wenn auch nur relative Werte der Kerngrößen wurden erhalten, indem an fixierten (Bouin) und gefärbten (saures Hämalaun nach P. Mayer) Schwanzspitzen gleichaltriger und im gleichen Entwicklungsstadium befindlicher Larven von *Triton alpestris* die Epidermiskerne mittels Abbeschem Zeichenapparat herausgezeichnet und anschließend die Fläche der so erhaltenen Kernprojektionen planimetrisch ausgemessen wurde. Da alle verwendeten Einrichtungen dauernd dieselben waren, die Molchhaut ein einschichtiges Epithel darstellt und nur an Totalpräparaten gearbeitet wurde, sind die möglichen Fehler sehr stark reduziert.

Zur Bestimmung der Normalgrößen wurden 5 Tieren (Kontrolle), die als ganze direkt fixiert worden waren, nach etwa 15 Minuten noch in der Fixierlösung die Schwanzspitzen abgeschnitten. Zur Kerngrößenbestimmung kamen hier, wie auch bei den weiteren Versuchen, nur Kerne zur Verwendung, die mindestens ein bis zwei Zellreihen von der Schnittfläche entfernt waren. Bei jedem Tier wurden 100 nebeneinanderliegende Kerne ausgewertet, und zwar je 50 von der dorsalen und 50 von der ventralen Seite.

In einem *ersten Versuch* wurden weitere 5 Tiere lebend in Holfretersche Lösung gebracht und ihnen nach einigen Minuten die Schwanzspitzen amputiert. Diese überlebenden Spitzen blieben 20 Minuten in Holfreterscher Lösung und wurden dann fixiert. Die Kerngrößenbestimmung erfolgte wie oben.

In einem *zweiten Versuch* wurden die amputierten Schwanzspitzen 16 Stunden in Holfreterlösung gehalten und dann fixiert.

Im *dritten Versuch* wurden die amputierten Schwanzspitzen 25 Minuten überleben gelassen. Die Versuchsanordnung war hier insofern verändert, als der Holtfreterlösung noch 0,5 Vol. % Äther zugesetzt war.

Da bei allen Versuchen Mitosen angetroffen wurden und nur in der unmittelbaren Wundzone pyknotische Kerne auftraten, kann eine stärkere Schädigung der untersuchten Gewebe ausgeschlossen werden. Osmotische Effekte waren nicht zu erwarten, da die Holtfretersche Lösung ein weitgehend isotonisches Medium darstellt. Ebenso können direkte Wirkungen des Nervensystems bei der angewendeten Versuchsanordnung vernachläßigt werden, da nur die Schwanzspitzen Verwendung fanden und diese keine direkte Verbindung

[1] G. Ten Cate, Ned. Tijdschr. Geneesk. *90* (1946).

[1] Vorläufige Mitteilung.

mit größeren Teilen des Zentralnervensystems mehr hatten. Die Länge der Schwanzspitzen betrug nicht mehr als $^1/_5$ der Gesamtlänge der Tiere.

Wie aus der beigefügten Tabelle der Durchschnittsgrößen der Kerne ersichtlich ist, kommt es nach der Amputation zu einer recht bedeutenden Vergrößerung derselben. Diese Zunahme beträgt, bezogen auf den Kontrolldurchschnitt nach 20 Minuten, 52% und bleibt bis mindestens 16 Stunden erhalten. Zu diesem Zeitpunkt liegt sie bei 40%, also noch praktisch gleich hoch.

		Kontrolle	20 Minuten Holtfreter	16 Stunden Holtfreter	25 Minuten Holtfreter + 0,5% Äther
Je Durchschnitt	1	216	344	299	187
von 100 Kernen	2	219	346	329	240
je eines Tieres	3	244	378	336	242
in μ^2	4	251	383	344	288
	5	278	385	369	291
Durchschnitt von je 500 Kernen von 5 Tieren . .		241	367	336	250
In % der Kontrollen . . .		100	152	140	104
Anzahl der Mitosen zwischen je 500 Kernen .		10	12	3	6

Es ist zu vermuten, daß dieser Effekt durch die Wundsetzung hervorgerufen wird und demnach wahrscheinlich durch histaminähnliche Gewebs- bzw. Wundhormone bewirkt wird.

Von Bedeutung ist die Feststellung, daß bei Zugabe von kleinen Äthermengen der Vergrößerungseffekt praktisch ausbleibt, denn der Durchschnitt der 500 gemessenen Kerne liegt nur um 4% über dem der Kontrolle. Der zugleich feststellbare Abfall der Mitosezahl bei den mit Äther behandelten Tieren ist wohl als Narkosewirkung zu deuten[1].

In Anbetracht der aus der Histaminliteratur bekannten Befunde, wonach verschiedene Histaminwirkungen[2] (Drüsengewebe, Muskulatur) durch narkotische Stoffe abgeschwächt bzw. aufgehoben werden können, scheinen die hier mitgeteilten Beobachtungen dafür zu sprechen, daß die vom geschädigten Gewebe auf die Umgebung ausgehenden Wirkungen histaminartigen Charakter aufweisen.

E. Kupka

Zoologisches Institut der Universität Graz, den 18. November, 1950.

Summary

After cutting off the tail-tips of *Triton alpestris larvae*, the nuclei of the surviving tail-tips, placed in isotonic solution (Holtfreter), become considerably enlarged. This enlargement is approximatively the same after 20 minutes and 16 hours and does not appear after 25 minutes if one adds to the Holtfreter solution 0·5 volume % ether. The similarity of this phenomenon to narcosis-effects of histamin-experiments is pointed out.

[1] G. Politzer, Protoplasmamonograph. *7*, 190 (1934). – J. F. Danielli, *Cell Physiology and Pharmacology* (Elsevier Publ. Co. Amsterdam, 1950).

[2] W. Feldberg und E. Schilf, *Histamin*, Monographie aus dem Gesamtgeb. d. Physiol. d. Pflanz. und d. Tiere *20*, 107 (1930).

Caste Determination in a Myrmicine Ant

Caste is trophogenic in *Myrmica rubra macrogyna*. Colonies of this ant hibernate as adults and third instar larvae, the latter being dormant until about mid-November, and later suspended by low temperature. The larvae vary in size considerably—from 0·3 to 3·0 milligrams, and differ structurally only sexually, or in ways that can be attributed to their stage of development. Thus, whilst all females have wing buds and undifferentiated ovaries, the larger ones have abundant eosinophil albuminoid granules in the trophocyte cytoplasm, but in the smaller ones, this material is still round the nucleus–if not actually within it. Under optimal culture conditions most female larvae greater than 1·5 milligrams yield queens, but it is possible by interfering in various ways, to produce workers, intercastes, or unusually small queens (Although often these fail to metamorphose completely).

This caste plasticity was first encountered when large larvae were cultured with workers in various ratios. Highest queen yields occured with ratios Workers/larvae of unity or more, (in wild colonies ratios vary about a mean near to unity), but even then, a small proportion of workers were produced—due to discriminate biased feeding. As the ratio decreased, first fewer and smaller queens, and then (ratio 0·1) only workers were produced. It was later found, that if single larvae were cultured with ample nurses, and were subjected to a varying period of protein starvation (at the culture temperature, 25° C) beforefull culture, sometimes workers, and sometimes queens could be obtained. Larvae starved for less than 4 days yielded queens, for more than 4 days workers, and for exactly 4 days a mixture of both—not intercastes. The workers were in all cases smaller than the queens, ranging from 3·4 to 5·1 milligrams instead of 5·8 to 6·9 milligrams. There is reason to believe that the critical period of starvation varies with the temperature and duration of hibernation.

By studying the growth of individual larvae, it was found that queens resulted only from those able to exceed a certain size (about 6·5 milligrams), and that this was possible only if they reached it *before a certain time*. Artificial delay by starvation, although it did not reduce the specific growth rate over the actual growing period, had the same effect as sub-optimal feeding throughout (as under conditions of nurse shortage). Thus, under optimal conditions, two factors enabled larvae to achieve the critical size in time–large initial size (that is, size at hibernation), and normal specific growth rate. Small larvae were not queen–potential in this sense.

If larvae which had passed the critical size but not reached full queen size were starved, they produced either intercastes or small queens. Those in the range 6·5–7·0 milligrams yielded a mixture of intercastes and queens, those greater than 7·0 milligrams yielded queens of size proportional to their weight at the beginning of starvation (9·0 milligrams is the usual maximum in normal queens). Gonad development parallels this, for enlargement of the germarium and differentiation of ovarioles begins as the larva passes the critical size, and proceeds with subsequent growth.

These facts have led to the development of a hypothesis of caste determination along the lines advanced by Shull[1] (1937) for aphids. Certain differences between ants and aphids must first be mentioned: thus, in ants, the workers which are apterous, without wing-muscles and without ocelli (as are the apterous aphids), are also smaller than the queens; caste mosaics are rare if not

[1] A. F. Shull, Biol. Bull. *72*, 259 (1937).

unknown in ants; intercastes are in nature rare, but easily produced experimentally, and are then intermediate in size as well as structure. If these facts are to be incorporated, the following hypothesis appears necessary: the duration of competence is brief and its onset dependent mainly on temperature; inductor concentration is proportional to size and has two significant thresholds, the lower initiating the development of queenness, and the higher completing it. To avoid natural intercastes and yet allow for their artificial production it is necessary to suppose that an extra impetus to growth is given to queen determined larvae and withheld or actually withdrawn from those which fail to secure induction. Intercastes would thus result from the metamorphosis of larvae with a concentration of inductor lying between the two thresholds.

Caste on this hypothesis would be determined as a result of a race between two processes, and it is encouraging to find, therefore, that in the related *Myrmica scabrinodis* temperature interferes differentially, for significantly more queens are produced in cultures at 18°C than at 25°C (in this respect these ants show a further resemblance to aphids). Failure of induction prevents additional increase in size and further differentiation. The worker is thus a form arrested before full potentiality is realised. Although it has no wing buds, it is not because they degenerate for they are extruded during metamorphosis, but are so small in their undeveloped state that they become merged with cuticular wrinkles by the time the adult form is reached (but are quite perceptible in the pupa). Degeneration does occur however in the ovariole rudiments.

So far, only the potentialities of hibernated larvae have been considered—and this accounts for half their full growth. The pre-dormancy factors relevant to caste, are not yet fully understood, but it seems that both dormancy and a period of "vernalisation" at low temperature are necessary for larvae to produce queens. Hibernation may thus be suitably construed as a period of quiescence in which the growth potentiality needed on regaining warmth, is built up. The size of larvae at dormancy is a function of nutrition in the preceding instars—not of egg-size, for this shows negligible variation. The fact that queens are only produced from hibernated larvae in *Myrmica* is part of a socio-ecological adaption which ensures that in the existing temperature-ontogeny relationship, sexuals are ripe for mating at the most suitable time of year. Queens are produced by large colonies in warm situations with abundant food supply, and in which the input of female brood is small in comparison with the vast labour force available to tend it.

M. V. Brian

Zoological Department, Glasgow University, December 6, 1950.

Zusammenfassung

Bei Ameisen (*Genus Myrmica*) ist Kastenbestimmung rein trophisch. Königindetermination hängt davon ab, daß die weiblichen Larven vor einer bestimmten Zeit eine gewisse Größe erreichen und einen zusätzlichen Wachstumsanstoß zur Folge haben. Dieser Mechanismus erinnert an die für die Aphiden beschriebenen Vorgänge.

Biosynthesis of Cholesterol from Isobutyrate[1]

The utilization of the branched chain of isobutyric acid by the intact rat has been described in a previous paper[1]. At that time, the radioactivity incorporated into the various liver fractions was reported. It has now been demonstrated that an appreciable amount of radioactivity is incorporated into the carcass cholesterol and carcass fatty acid. In feeding experiments with deuterium-labeled isobutyrate, Rittenberg and Schoenheimer[2] and Bloch[3] reported that little or no deuterium was incorporated into cholesterol.

The method of injection and other experimental details have already been described[1]. After sacrifice of the rat, the carcass was homogenized and dried by lyophilization. The dried carcass was extracted with ether-alcohol 1:3 for 100 hours and the fatty acid and nonsaponifiable fractions were separated in the usual manner.

In the first case a total of 19·6 μc of isobutyrate were injected. Cholesterol, m.p. 147–148°, was isolated through the digitonide. The infra red spectrum of the extracted cholesterol was identical with that of an authentic sample[4]. In chromatography on "Quilon" treated paper[5], the cholesterol showed an R_f of 0·55 when methanol was the developing solvent. A radioautograph[6] showed that no other radioactive material was present.

The specific activity of the cholesterol was found to be 1500 disintegrations/min/mg C[7]. The specific activity of the carcass fatty acids was 1000 dis/min/mg C.

In two similar experiments in which 19·6 μc and 40·5 μc of isobutyrate were injected, cholesterol was isolated as the digitonide and assayed for radioactivity in this form. The specific activities, calculated for cholesterol, were 800 dis/min/mg C and 1800 dis/min/mg C respectively.

Acknowledgment: – The interest shown by Dr. Melvin Calvin during the course of this work is gratefully acknowledged.

David Kritchevsky and Irving Gray[8]

Radiation Laboratory, University of California, Berkeley, February 9, 1951.

Zusammenfassung

Es wird der Beweis erbracht, daß die Methyl-Gruppen der Isobuttersäure in das Cholesterin der Ratte einverleibt werden.

[1] I. Gray, P. Adams, and H. Hauptmann, Exper. *6*, 430 (1950).
[2] D. Rittenberg and R. Schoenheimer, J. Biol. Chem. *121*, 235 (1937).
[3] K. Bloch, J. Biol. Chem. *155*, 255 (1944).
[4] We are indebted to Dr. N. K. Freeman and Mr. Yook Ng of Donner Laboratory for determination of these spectra.
[5] D. Kritchevsky and M. Calvin, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 4330 (1950).
[6] A. A. Benson, *et al.*, J. Amer. Chem. Soc. *72*, 1710 (1950).
[7] All measurements of radioactivity on "Nucleometer" windowless counter.
[8] Major, Medical Service Corps, U. S. Army. Present address: Brooke Army Medical Center, Fort Sam Houston, Texas.

[1] The work described in this paper was sponsored by the U.S. Atomic Energy Commission.

Zur Bausteinanalyse des Clupeins

In ihren letzten Mitteilungen «Über Clupein» haben K. Felix und Mitarbeiter[1] über die Feststellung berichtet, daß in dem von ihnen untersuchten Präparat von Clupeinmethylester-hydrochlorid neben Arginin, Alanin, Valin, Serin und Prolin als den schon bekannten Haupt-

[1] K. Felix, H. Fischer, A. Krekels und H. M. Rauen, Z. physiol. Chem. *286*, 67 (1950). – K. Felix, H. M. Rauen, W. Stamm und G. Zimmer, ebenda *286*, 199 (1950).

bausteinen[1] mit der Methode der Papierchromatographie noch Threonin und Isoleucin, wenn auch in geringeren Mengen, als Bausteine nachgewiesen und daß weiterhin nach Einwirkung von Dinitrofluorbenzol auf das untersuchte Clupeinpräparat sowohl Prolin wie Serin als amino-endständige Bausteine gekennzeichnet werden konnten.

Die Untersuchung eines von uns aus dem Rohclupein durch Umscheidung aus konzentrierter wässeriger Lösung in der Kälte bis zu konstanter Höhe des Quotienten $N:NH_2 = 125$ gereinigten Clupeinpräparates, das den Hauptanteil (etwa 70%) des Rohclupeins darstellt[2], ergibt demgegenüber die folgenden Befunde:

1. Das Präparat enthält zufolge der papierchromatographischen Analyse neben Arginin nur die 4 Monoaminosäuren Serin, Valin, Alanin und Prolin, und zwar die letzteren in dem schon früher[3] festgestellten molekularen Verhältnis von 2:1:1:1; weder Isoleucin noch Threonin sind darin auch nur in Spuren nachweisbar.

2. Die Analyse der Spaltprodukte nach Einführung des Dinitrophenylrestes in unser Clupein ergibt als einzige substituierte Aminosäure Prolin; neben dem allein gebildeten Dinitrophenylprolin ist auch papierchromatographisch kein Dinitrophenylserin nachzuweisen. Prolin stellt also in unserem Präparat die einzige amino-endständige Aminosäure dar.

Aus diesen Befunden insgesamt ergeben sich die folgenden Schlußfolgerungen:

Durch die von uns vorgenommene Fraktionierung des Rohclupeins auf Grund des Gehaltes an Aminostickstoff gelingt es, die Hauptkomponente desselben, mit endständigem Prolin, die ja durch den niedrigsten Gehalt an Aminostickstoff ausgezeichnet ist, frei von den anderen Komponenten des ursprünglichen Mischstoffs[4] zu erhalten. Das von Felix und Mitarbeitern untersuchte, nach einem anderen Verfahren fraktionierte Clupeinpräparat stellt danach offenbar noch ein Gemisch zweier Clupeinanteile dar, deren einer Prolin und deren zweiter Serin als endständige Aminosäure trägt; Isoleucin und Threonin scheinen Bausteine der serin-endständigen Komponente zu sein.

Für die Kennzeichnung der Natur der Bausteine und ihrer Reihenfolge im Molekül, die angestrebt wird, sollten daher nur solche Präparate gewählt werden, die zum Beispiel zufolge ihrer Baustein- und ihrer Endbausteinanalyse sich nicht als Mischstoffe erweisen.

E. Waldschmidt-Leitz, K. Kühn und Fr. Zinnert

München, den 17. Februar 1951.

Summary

It has been found that clupein, purified by a fractionation of its aqueous solution in the cold, contains only arginine, serine, alanine, valine and proline as constituents, and that a proline residue is placed at the amino end of the peptide chain of its molecule.

[1] Vgl. A. Kossel, *Protamine und Histone* (Fr. Deuticke, Leipzig und Wien, 1929). – E. Waldschmidt-Leitz und E. Günther, Makromolekulare Chemie *2*, 120 (1947/48).

[2] Vgl. E. Waldschmidt-Leitz, F. Ziegler, A. Schäffner und L. Weil, Z. physiol. Chem. *197*, 219, und zwar S. 224ff. (1931).

[3] E. Waldschmidt-Leitz und E. Günther, *l. c.*

[4] Gemäß der Definition von H. Staudinger, *Makromolekulare Chemie und Biologie* (Basel, 1947, S. 126).

Similar Effects of Methylene Blue and of Vitamin E on Liver Storage of Vitamin A in Chicks

As will be reported elsewhere[1], certain manifestations of vitamin-E deficiency in chicks and rats can be prevented by dietary supplements of some substances which easily undergo reduction-oxidation in the body. This applies to the exudative diathesis, encephalomalacia in chicks, and peroxidation and yellow-brown discoloration of adipose tissue in chicks and rats, as well as to depigmentation of the incisors in rats. All these conditions, which are caused by feeding certain highly unsaturated fatty acids, such as those in cod liver oil together with vitamin-E deficient diets, can be prevented by dietary supplements of vitamin E, for instance in the form of *d,l*-α-tocopherol acetate, and greatly depressed by dietary additions of methylene blue, thionine, thiodiphenylamine and several similar compounds. Along with the effect on the symptoms, in chicks, a considerable improvement in growth rate is observed.

In order to study further the cause of the improved growth rate we determined (by the Carr-Price reaction as well as by measurement of the absorption at 325 mμ) the deposition of vitamin A in the liver of chicks receiving an exudate producing diet with 10% cod liver oil, with and without supplements of d,l-α-tocopherol acetate (10 mg%) and methylene blue (126 mg%). The determinations were carried out when the chicks had been on the experimental diet for 4 weeks from the 10th day after hatching. They showed that the feeding of methylene blue resulted in a very considerable increase in vitamin A storage in the liver, indicating that also in this respect methylene blue exerts an effect known to be exhibited by vitamin E.

The average values for vitamin A per gram fresh liver, standard deviation of the mean, number of animals and average weight were as follows:

Diet	Vitamin A i.u. per g liver	No. of chicks	Weight g
Basal E-deficient, no. 536, Dam et al.[2]	68±13	6	161
Basal + 10 mg% d,l-α-tocopherol acetate	386±47	9	226
Basal + 126 mg% methylene blue	903±106	10	252

A full account of the experiment will be published elsewhere.

Acknowledgement.–We thank F. Hoffmann-la Roche & Co., Basle, for the gift of d,l-α-tocopherol acetate (Ephynal) used in these studies.

Henrik Dam, Inge Prange, and Ebbe Søndergaard

Department of Biology, Polytechnic Institute, Copenhagen, November 24, 1950.

Zusammenfassung

Kücken, die mit einer Dorschlebertran enthaltenden, vitamin-E-freien Nahrung gefüttert werden, lagern viel mehr Vitamin A in der Leber ab, wenn die Nahrung auch Methylenblau enthält. Diese Wirkung des Methylenblaus auf die Vitamin-A-Speicherung ähnelt dem entsprechenden Effekt von Vitamin E und beruht wahrscheinlich auf einer antioxydierenden Wirkung des Leukomethylenblaus.

[1] H. Dam, I. Kruse, I. Prange, and E. Søndergaard, Acta Physiol. Scand. (in press). – H. Dam and H. Granados, Acta Physiol. Scand. (in press).

[2] H. Dam, I. Kruse, I. Prange, and E. Søndergaard, Acta Physiol. Scand. (in press).

Über biologische Wirkungen von Acridinderivaten

Die biologischen Wirkungen der Acridinderivate (A.D.) hat Lenz[1] besonders eingehend studiert. Er konnte durch kleine und mittlere Trypaflavingaben (10–30 mg/kg Kaninchen) neben einer Erregung der Atmung einen Leukozytenanstieg um das 2–3fache des Normalen beobachten. Große Dosen setzten die Körpertemperatur herab, tödliche Gaben (50 mg/kg Kaninchen) lähmten das Atemzentrum und die motorische Hirnfunktion, ohne Kreislauf und Herz primär wesentlich zu schädigen. Monasterio[2] fand nach 20 mg Gaben von Trypaflavin pro kg Tier eine Steigerung des Blutzuckerspiegels durch Ausschüttung der Glykogendepots.

Die antibakterielle Wirkung der A.D., die *in vitro* anders verläuft als *in vivo* (Benda, Schnitzer[3]), erklärte man sich unter anderem durch eine Stimulierung des Reticuloendothels (Nonnenbruch und Wenzl[4]) und neuerdings durch spezifische Hemmung des Nukleinsäurestoffwechsels der Bakterien (Wagner-Jauregg[5]). Die parasitotrope, darmspasmolytische und analgetische Wirkung von Rivanol hat sich die Klinik längst, speziell in der Behandlung der Amöbenruhr, zunutze gemacht (Peter, Wagner, Eichholz)[6].

Ausgehend von einer auffallenden strukturellen Ähnlichkeit mit den «Antihistaminen» wurden die A.D. Atebrin, Rivanol, Nitro-Acridin 3582 und Trypaflavin auf eine ähnliche (antihistaminartige) Wirkung geprüft.

Wie Abbildung 1 zeigt, werden tatsächlich die durch Histamin erzeugten Kontraktionen am isolierten Meerschweinchendarm durch die A.D. stärker gehemmt als gleichgroße Acetylcholin- und Bariumchlorid-Kontraktionen. Somit überwiegt der Histamin-Hemmungseffekt der A.D. Das Ergebnis blieb gleich, ob die A.D. vor oder nach dem Histamin dem Darmbad zugesetzt wurden. Ein Vergleich der antihistaminartigen Wirkungen der A.D. untereinander ist in Abbildung 2 graphisch dargestellt. Der Hemmungsgrad gegenüber der Acetylcholin-Bariumchlorid- und Spontankontraktion des Darmes verlief ähnlich abgestuft.

Ein Vergleich der spasmolytischen Darmwirkung der A.D. mit anderen Wirkstoffen hatte folgendes Ergebnis:

1. *Atropinum sulfuricum* hat in der Aufhebung der Spontankontraktion des Darmes eine 500mal stärkere, in der Hemmung der Acetylcholinkontraktion eine 200mal stärkere Wirkung als Rivanol. Umrath[1] fand dasselbe Verhältnis der Wirksamkeit am isolierten Krebsdarm.

2. Adrenalin wirkt in der Aufhebung der Acetylcholinkontraktion 4–5mal stärker, in der Hemmung der Histaminkontraktion 1½mal schwächer als Rivanol.

3. Das bekannte Antihistaminikum «Antistin» hat einen 1000–2000mal stärkeren Antihistamineffekt als Atebrin.

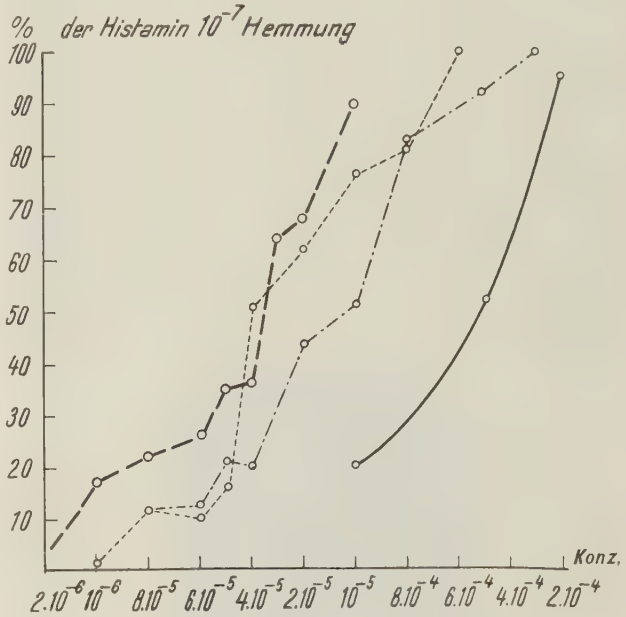


Abb. 2. – Vergleich der einzelnen A. D. untereinander in % der Histaminhemmung.
— Atebrin ·—·— Nitroacridin 3582
..... Rivanol ——— Trypaflavin

Im Schulz-Daleschen Versuch konnte Rivanol in der Konzentration 10^{-5} die durch sensibilisierendes Hühnereieiweiß 10^{-4} erzeugte Darmkontraktion vollständig beheben (Abb. 3).

Wurden die A.D. in stärkerer Konzentration als 10^{-4} dem Darmbad zugesetzt, so zeigte sich der Darm zunehmend schwerer auswaschbar, bis bei etwa 3 mal 10^{-3} eine irreversible Lähmung erfolgte.

Im Einklang mit diesen Darmversuchen wurden die A.D. auch am isolierten Herzen von *Rana esculenta* ge-

[1] E. Lenz, Z. ges. exp. Med. *12*, 195 (1921).

[2] G. Monasterio, Arch. exp. Path. und Pharm. *159*, 172 (1931).

[3] L. Benda, Med und Chem. *1*, 51 (1933) Bayer Leverkusen. – R. Schnitzer, Med. und Chem. *3*, 34 (1936) Bayer Leverkusen.

[4] Nonnenbruch und Wenzel, Ref. in Klin. Wschr. *11*, 485 (1932).

[5] J. Wagner-Jauregg, Naturwissenschaften *31*, 335 (1943).

[6] F. Peter, Münch. med. Wschr. *74*, 1709 (1927). – O. Wagner, Beiheft Schiffs- und Tropenhyg. *32*, 159 (1928). – F. Eichholz, *Lehrbuch der Pharmakologie* (Berlin, Springer 1944, S. 503).

[1] K. Umrath, mündliche Mitteilung.

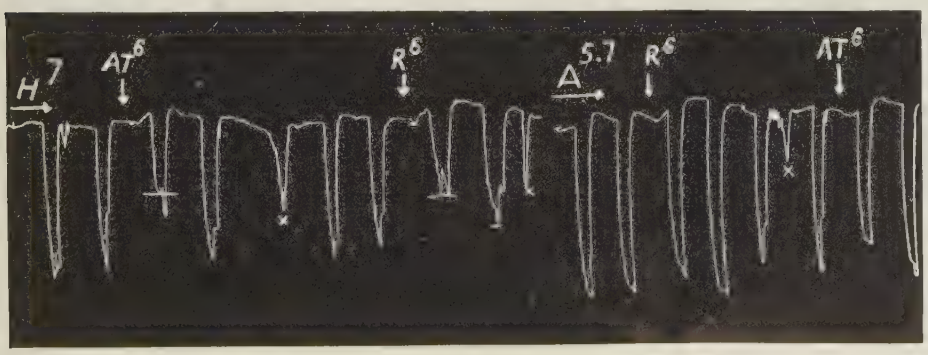


Abb. 1. – Hemmung der Histamin- und Acethylcholinkontraktion des Meerschweinchendarmes durch vorherige Gabe von Atebrin 10^{-6} (AT^6) und Rivanol 10^{-6} (R^6). Die Zacken der linken Kurvenhälfte entsprechen Kontraktionen durch Histamin 10^{-7} (H^7), die der rechten jeweils einer durch Acethylcholin $5 \cdot 10^{-7}$ ($A^{5.7}$). – Am Tiefpunkt jeder Zacke Tyrodewechsel. – + = Tyrodewechsel.

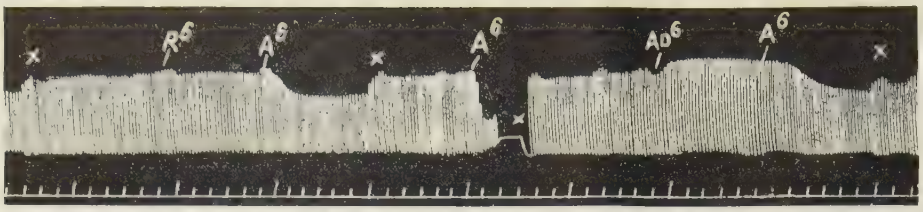


Abb. 4. – Acethylcholinherzstillstand, verhindert durch Rivanol 10^{-6}(R6) und im Vergleich dazu durch Adrenalin 10^{-6}(AD6). A6 = Acethylcholin 10^{-6}, + = Ringerwechsel.

prüft. Schon Schaumann[1] hatte einen fördernden Einfluß von Rivanol auf die Herzaktion erwähnt, andere Untersucher von Derivaten der Acridinreihe kamen zu anderen Ergebnissen (Heathcote[2], Janner[3]).

Die eigenen Versuche ergaben, daß alle Qualitäten der Herzaktion, falls diese eine Schädigung durch KCL oder Acetylcholin erfuhren, im positiven Sinne durch bestimmte Konzentrationen der A.D. beeinflußt wurden.

Die Rivanolwirkung, die sich bei der Behebung des Acetylcholin-Herzstillstandes am wirksamsten erwiesen hatte, war bereits in der Konzentration 10^{-6} deutlich sichtbar. Adrenalin wirkte gleich stark wie Rivanol (Abb. 4). Während Adrenalinzusatz zum normal schlagenden Herzen eine Zunahme der Hubhöhe verursacht, bleibt diese durch A.D.-Zusatz unverändert. *Atropinum sulfuricum* erwies sich nur 10mal stärker wirksam als Rivanol.

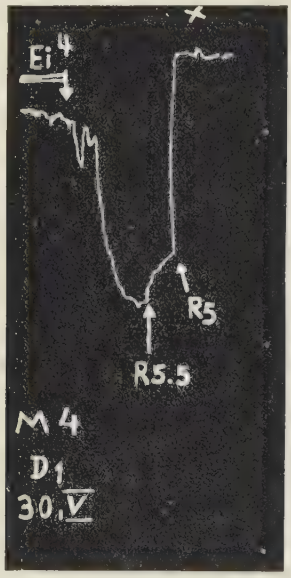


Abb. 3. – Aufhebung der anaphylaktischen Darmkontraktur durch Rivanol. R 5·5 = Rivanol $5 \cdot 10^{-5}$, R 5 = Rivanol 10^{-5}, Ei 4 = Hühnerei-Eiweiß 10^{-4}. + = Tyrodewechsel.

Der durch 0,7%ige KCL-Ringerlösung verursachte Herzstillstand wurde von allen 4 A.D. in der Konzentration 10^{-5} glatt behoben. Die bereits in der ersten Minute schädigende Konzentration (sichtbar an der Abnahme der Hubhöhe des schlagenden Herzens) betrug bei Rivanol und Trypaflavin 5 mal 10^{-3}, bei Atebrin und Nitroacridin 3582 10^{-4}.

Antistinzusatz konnte in keiner Konzentration einen positiven Effekt am acetylcholingeschädigten Herzen auslösen, ja es verursachte schon in der Konzentration 5 mal 10^{-4} in der ersten Minute eine deutliche Abnahme der Hubhöhe.

Die Versuche an Herz und Darm deuten darauf hin, daß die A.D., die biologisch hochwirksame Substanzen darstellen, ähnlich dem Atropin, die Acetylcholinwirkung blockieren können. Am Darm erstreckt sich diese Wirkung auch auf das muskulär angreifende Bariumchlorid und im besonderen Maße auf das Histamin. Dieser Effekt sowie die Lösung der Eiweißkontraktur im Schulz-Daleschen Versuch lassen darauf schließen, daß die A.D. anaphylaktisches Geschehen positiv beeinflussen. Die günstige Wirkung gewisser A.D. auf den Verlauf von Infektionen und besonders toxischen Darminfektionen, wobei ja histaminbildende Bakterien eine große Rolle spielen, wird dadurch erklärt. Es wäre interessant, die Wirkung der A.D. in bezug auf eine *allgemeine* Spasmolyse und Beeinflussung der Herzaktion in therapeutischen Gaben am Menschen zu beobachten.

Die Farbwerke Hoechst, Frankfurt a.M., stellten mir dankenswerterweise die hier angeführten Acridinderivate für die Versuche zur Verfügung.

H. Müssbichler

Zoologisches Institut der Universität Graz, den 30. November 1950.

Summary

The A.D. Atebrin, Rivanol, Nitroacridin No. 3582 have a spasmolytic effect on the spontaneous activity of the isolated ileum of the guinea pig, also on contractions caused by histamine, acetylcholine $BaCl_2$ and sensibilating protein.

The histamine suppressing effect of Rivanol and Atebrin is larger than that of acetylcholine.

The A.D. accelerate in concentrations of 10^{-6}–10^{-5} the chronotropy and raise the inotropy, if the latter are decreased by acetylcholine or KCl.

The efficiency of A.D. on the isolated ileum and the isolated heart are compared with that of atropine, adrenalin, and antistin.

Die Beeinflussung der Masugi-Nephritis durch Cortison

Die experimentell durch nephrotoxisches Serum ausgelöste Masugi-Nephritis kommt in ihrem klinischen wie pathologisch-anatomischen Bilde der menschlichen diffusen Glomerulonephritis unter allen experimentellen Nierenerkrankungen zweifellos am nächsten. Nach Masugi und den späteren Untersuchern handelt es sich um eine allergische Reaktion zwischen der Niere des Versuchstieres, zum Beispiel des Kaninchens, und dem nephrotoxischen Antinieren-Antikörper enthaltenden Serum, zum Beispiel der Ente. In der Folge zeigte es sich aber, daß diese Rekation offenbar nicht so einfach ist, sondern daß dabei die Anwesenheit von Antikörpern des Versuchstieres gegen das injizierte Entenserum irgendwie beteiligt sein muß. Für einen solchen komplexen Mechanismus sprach die Latenzzeit zwischen Injektion des nephrotoxischen Serums und der Ausbildung der

[1] O. Schaumann, Beiheft Arch. Schiffs- und Tropenhyg. *32*, 170 (1928).

[2] A. Heathcote und A. L. Urquart, J. Pharm. exp. Ther. *38*, 145 (1930).

[3] J. Janner, Schweiz. Z. Path. und Bakt. *11*, 289 (1948).

Nephritis und ferner die Beobachtung[1], daß die Bildung dieser Antikörper durch Ganz-Röntgenbestrahlung des Versuchstieres unterdrückt und dabei mit dem nephrotoxischen Serum keine Nephritis mehr ausgelöst werden kann.

Die neuesten Beobachtungen, nach welchen Cortison eine antientzündliche, vor allem aber eine hemmende Wirkung auf die Mesenchymreaktion ausübt, veranlaßte, Cortison in Fällen von Glomerulonephritiden und Nephrosen[2] und auch bei der experimentellen Masugi-Nephritis[3] anzuwenden. Die Resultate sind aber uneinheitlich. So wurden von einzelnen Autoren Erfolge, von andern aber keinerlei Einwirkung beobachtet. Dies veranlaßte uns, bei unseren Arbeiten über die Masugi-Nephritis die Verwendung von Cortison ebenfalls zu studieren.

Methodik. Enten wurden mit blutfreiem Kaninchen-Organbrei zweimal wöchentlich, insgesamt etwa 60mal, intraperitoneal sensibilisiert. Das von diesen Enten gewonnene nephrotoxische Serum wurde durch Erhitzen auf 56 Grad während 30 Minuten inaktiviert und hierauf ausgewachsenen Kaninchen von 2,9–3,5 kg i.v. appliziert. Auf diese Weise wurden in einer ersten Versuchsserie drei Tiere mit Cortison und drei ohne Cortison behandelt. Den Cortison-Tieren wurden drei Tage vor der Injektion und an den darauffolgenden 6 Tagen je 25 mg Cortison pro kg injiziert. Nur ein Tier erhielt Cortison bis zum 21. Tage. Zur Erzeugung der Nephritis genügte eine einmalige Injektion von 3 cm^3 unseres sehr nephrotoxischen Serums, um in 100% der Tiere eine Nephritis auszulösen.

Bei allen Kaninchen wiesen wir das injizierte, im Blut zirkulierende nephrotoxische Entenserum sowie die Bildung von Antikörpern gegen dieses Serum mit der Präzipitationsmethode nach.

Sämtliche Tiere wurden am 10. Tag nach der Injektion des nephrotoxischen Serums einseitig nephrektomiert und die überlebenden Tiere am 21. Tage getötet.

Ergebnisse. Ein deutlicher Unterschied zwischen Kontrolltieren und den mit Cortison behandelten zeigt sich schon in der Überlebensdauer. So gingen zwei Kontrolltiere am 7. bzw. 9. Tag nach der Injektion spontan zugrunde, während die Cortison-Tiere die am 10. Tag nach der Injektion durchgeführte einseitige Nephrektomie um 5 bzw. 8 Tage überlebten. Die beiden überlebenden Tiere wurden am 21. Tage getötet.

Auch der Gewichtsverlauf zeigt charakteristische Unterschiede: Während die Gewichtskurve der Nicht-Cortison-Tiere stationär blieb oder leicht stieg, zeigten die Cortison-Tiere vom Momente der Applikation des nephrotoxischen Serums an einen starken Gewichtsabfall bis zum Tode von im Durchschnitt 700 g.

Das zirkulierende Entenserum ließ sich in beiden Serien im Blute der Kaninchen gleich lang (i. a. 5–7 Tage) und gleich intensiv nachweisen.

Demgegenüber ergibt die Bestimmung der Antikörper gegen das Entenserum einen frappanten Unterschied zwischen unbehandelten und cortisonbehandelten Tieren. Die unbehandelte Serie zeigt durchwegs einen raschen und hohen Anstieg des Titers auf Werte zwischen 128 und 256; bei einem Tier fanden wir noch nach 21 Tagen einen AK-Titer von 1:64. Bei den cortisonbehandelten Tieren stiegen die Antikörper nur auf 1:32 bzw. 1:64 an; sie konnten bei einem Tier überhaupt nicht nachgewiesen werden. Nach 21 Tagen waren beim Kontrolltier keine Antikörper mehr vorhanden.

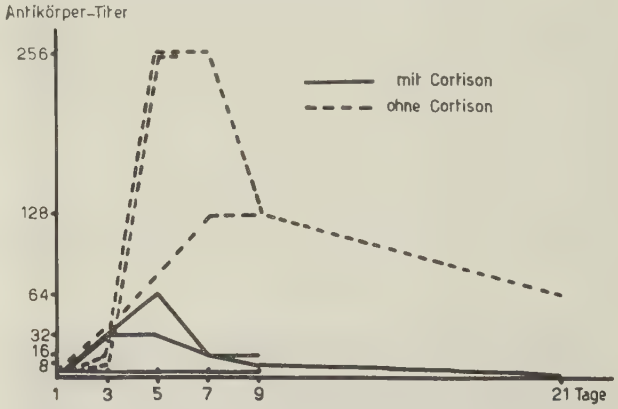


Abb. 1. – Antikörpertiter der Kontroll- und cortisonbehandelten Kaninchen nach Applikation von nephrotoxischem Entenserum.

In histologischer Beziehung ist der Unterschied zwischen beiden Gruppen noch frappanter. Die spontan am 7. bzw. 9. Tage gestorbenen unbehandelten Tiere und ebenso die am 10. Tag beim Kontrolltier entnommene Niere zeigen das typische Bild einer sehr ausgedehnten akuten diffusen Glomerulonephritis. Die Proliferation des Schlingenendothels der Glomerula und diejenige des Kapselepithels sind schon sehr deutlich. Die oxydasepositiven Zellen innerhalb und besonders außerhalb der Glomerula sind sehr stark vermehrt. Man findet zahlreiche Schlingenthromben. Die Basalmembranen der Glomerulumschlingen sind schwer verquollen, zeigen aber noch keine Aufsplitterung. Im Interstitium besteht eine mäßige herdförmige entzündliche Infiltration. Das am 14. Tag spontan gestorbene Cortison-Tier zeigt in der noch restierenden Niere eine sehr starke Membranverquellung der Glomerulumschlingen, während das Kapselepithel nur ganz vereinzelte Proliferationen erkennen läßt. Die Endothelzellen sind ziemlich diffus gequollen

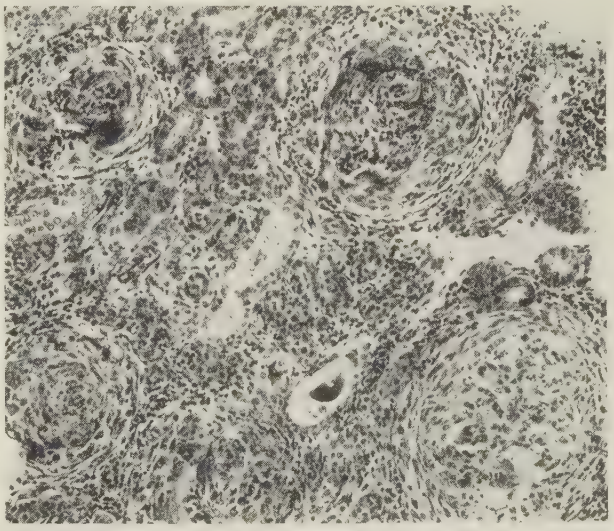


Abb. 2. – Kontrolltier, 20 Tage nach Injektion des nephrotoxischen Serums: Schwere diffuse Glomerulonephritis mit allgemeiner Halbmondbildung und interstitieller Entzündung. Wegen der periglomerulären Bindegewebswucherung erscheinen die Glomerula stark vergrößert (Vergrößerung 150 ×).

[1] C. F. Kay, Amer. J. Med. Sci. *204*, 483 (1942).

[2] E. B. Farnsworth, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *74*, 57 (1950); *74*, 60 (1950). – N. M. Keith, M. H. Power und G. W. Zaugherty, Proc. Staff Meetg. Mayo Clinic *25*, 491 (1950).

[3] D. B. Hackel, A. G. Portfolio und T. D. Kinney, Proc. Soc. exp. Biol. Med. *74*, 458 (1950).

und zeigen vereinzelte Mitosen. Die Nieren der beiden am 18. bzw. 21. Tage untersuchten Cortison-Tiere lassen ein ähnliches Bild erkennen, wie es die unbehandelten Tiere am 7. bzw. 9. Tage nach der Injektion geboten haben. Die proliferativen Veränderungen treten aber gegenüber den dysorotischen (Membranverquellung, Ödem) immer noch stark in den Hintergrund. Dies gilt besonders für das am 20. Tage getötete Tier, welches bis zu diesem Moment mit Cortison behandelt worden war. Die proliferative Komponente beschränkt sich hier auf eine ganz geringgradige Endothelproliferation der Glomerulumschlingen, während das Kapselepithel praktisch noch kaum Wucherungen erkennen läßt. Bei dem am 21. Tage getöteten Kontrolltier stehen dagegen die proliferativen Veränderungen im Vordergrund, und fast sämtliche Glomerula zeigen plumpe «Halbmonde».

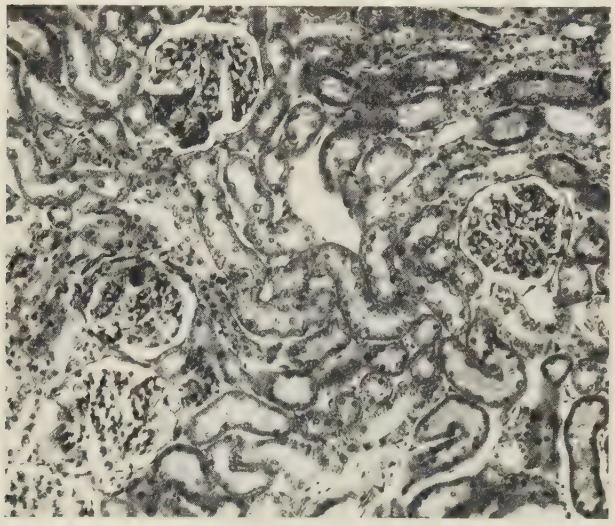


Abb. 3. – Cortisonbehandeltes Tier, 20 Tage nach Injektion des nephrotoxischen Serums: Vereinzelte Schlingenthrombosen mit beginnender Kapselwucherung. Noch keine interstitielle Mitbeteiligung (gleiche Vergrößerung wie Abbildung 2).

Diskussion. Unsere eigentlich nur als Pilotversuche unternommenen Experimente lassen trotz der kleinen Zahl von Tieren schon mit aller Deutlichkeit erkennen, daß die durch nephrotoxisches Serum erzeugte diffuse Glomerulonephritis durch gleichzeitige Cortison-Behandlung zumindest temporär unterdrückt werden kann. Noch am 10. Tage, das heißt 4 Tage nach Absetzen der Cortison-Applikation, zeigten die Kaninchennieren nicht die geringsten glomerulär-nephritischen Veränderungen. Die geringgradigen Membranveränderungen, welche am 10. Tage bei den Cortison-Tieren festgestellt wurden, führen wir in Analogie zu früheren Untersuchungen[1] auf eine direkte Wirkung des Fremdserums auf die Membranen zurück. Erst später, am 15., 18. und am 21. Tage, findet man typische histologische Bilder, welche aber gegenüber den Befunden bei nicht behandelten Tieren weit geringfügiger sind.

Diese Beobachtung ist pathogenetisch von großem Interesse. Unsere Versuche zeigen, daß durch das Cortison die Antikörperbildung gegen das nephrotoxische Entenserum wenn auch nicht stets völlig unterdrückt, so doch stark hingehalten wird, obschon das nephrotoxische Serum im Blute der Kaninchen beider Versuchsserien in gleicher Weise nachgewiesen werden kann. Die primäre Antigen-Antikörper-Bindung, wie sie in der Kaninchenniere fast momentan erfolgen soll[1], führt somit als solche noch nicht zur Gewebereaktion einer Glomerulonephritis. Eine solche Reaktion kann noch lange Zeit hinterher, wenn offenbar keine nephrotoxischen Antikörper mehr im Blute zirkulieren, im Gewebe stattfinden. An dieser Reaktion scheinen die Antikörper des Versuchstieres gegen das nephrotoxische Serum beteiligt zu sein. Diese Reaktion wird nun, gleich wie die Bildung der Antikörper, durch das Cortison wenn auch nicht völlig aufgehoben, so doch wesentlich verzögert und gemildert.

O. Spühler, H. U. Zollinger, M. Enderlin und H. Wipf

Medizinische Universitäts-Poliklinik und Pathologisches Institut der Universität Zürich, den 25. November 1950.

Summary

In a first series of experiments we could show that cortisone inhibits the formation of rabbit antibodies against nephrotoxic duck serum. Approximately parallel thereto the tissue reaction of a diffuse glomerulonephritis is, if not entirely suppressed, none the less temporally and in regard to its intensity also essentially retarded. These experiments are being continued upon a broader basis.

[1] H. Sarre und H. Wirtz, Arch. klin. Med. *189*, 1 (1942).

[1] H. U. Zollinger, Helv. med. acta *12*, 23 (1945).

Unabhängigkeit der Bildung des Fremdkörpergranuloms und seiner Beeinflussung durch Compound E von der Hypophyse

In einer früheren Mitteilung haben wir beschrieben, daß Cortisone eine ausgesprochene hemmende Wirkung auf die Bildung von in bestimmter Weise hervorgerufenen Fremdkörpergranulomen besitzt. Gleichzeitig mit der Hemmung der Entwicklung des Fremdkörpergranuloms tritt im allgemeinen eine parallele Hemmung des Wachstums der Tiere ein[1]. Die «Parallelität» zwischen der Wirkung auf das Gesamtwachstum und die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms legt den Gedanken nahe, daß allgemeine Wachstumsfaktoren in diesem Vorgang eine Rolle spielen. Es schien daher interessant, zu prüfen, welche Rolle die Hypophyse in diesem Geschehen einnimmt, und zwar einerseits, ob die Entwicklung des Fremdkörpergranuloms am hypophysenlosen Tier in gleicher Weise erfolgt wie am Normaltier, und andererseits, ob die Hemmung der Entwicklung des Granuloms durch Cortisone in gleicher Weise beim normalen wie beim hypophysenlosen Tier hervorgerufen werden kann.

Es besteht eine gewisse Schwierigkeit bei der Durchführung dieser Versuche darin, daß die normalen Ratten während der Versuchsperiode an Gewicht zunehmen, während die hypophysenlosen etwa auf dem Körpergewicht zur Zeit der Operation stehenbleiben. Die Tiere beider Gruppen wurden mit annähernd gleichem Gewicht eingesetzt.

Die Versuche wurden in der gleichen Weise durchgeführt, wie bereits früher von uns beschrieben[2]. Wattepreßlinge wurden subkutan implantiert und am sechsten Tage auf Feucht- und Trockengewicht, Zellzusammensetzung usw. untersucht. Die Hypophysek-

[1] B. B. Wells und E. C. Kendall, Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. *15*, 324 (1940). – D. J. Ingle, Endocrinology *29*, 649 (1941). – C. A. Winter, R. H. Silber und H. C. Stoerk, Endocrinology *47*, 60 (1950).

[2] R. Meier, W. Schuler und P. Desaulles, Experientia *6*, 469 (1950).

tomie war bei den Ratten etwa 18 Tage vor dem Versuchsbeginn durchgeführt worden. Die Wirkung wurde an der Atrophie der Hoden nachgewiesen, außerdem wurde nach Versuchsabschluß jedes Tier einzeln auf den Erfolg der Hypophysektomie kontrolliert.

Wie aus den in der Tabelle mitgeteilten Zahlen hervorgeht, haben die normalen Ratten während der relativ kurz dauernden Periode des Versuches an Gewicht zu-

	Normale Tiere	Hypophysenl. Tiere	Normale Tiere + Cortisone tägl. 1 mg	Hypophysenl. Tiere + Cortisone tägl. 1 mg
Anzahl Tiere	10	10	10	5
Behandlung	2 × 50 mg Rohwatte – Preßlinge subkutan			
Versuchsdauer	6 Tage	6 Tage	6 Tage	6 Tage
Gewicht des Granuloms feucht	401	390	318	316
(Mittelwert) in mg trocken	66	67	46	47
Körpergewicht Mittelwert in g				
Versuchsbeginn	81,8	81,6	85,0	101,4
Versuchsende	96,5 (+18%)	79,0 (–3%)	87,0 (+3%)	94,4 (–7%)

genommen. Die hypophysenlosen Ratten haben in geringem Maße an Gewicht abgenommen, was aber vielleicht noch innerhalb der Fehlerbreite der Meßmethode liegt. Das Gewicht beider Tiergruppen ist am Ende des Versuches different.

Die Granulomgewichte sind bei beiden Gruppen etwa gleich. Die histologische Untersuchung ergibt weiter, daß die Zellzusammensetzung der Granulome in beiden Fällen identisch ist. Es besteht aus undifferenzierten Bindegewebszellen mit Riesenzellen, die Zahl der Mitosen ist etwa gleich.

Aus diesem Versuch kann bereits geschlossen werden, daß für die Bindegewebsgranulombildung das von der Hypophyse abhängige Wachstum des Tieres nicht eine Voraussetzung darstellt. Es wird in weiteren Versuchen abzuklären sein, ob dieser Mechanismus des «Wachstums» unter gewissen Bedingungen eine zusätzliche Bedeutung besitzen kann.

Für die Beantwortung der zweiten Frage wurden hypophysektomierte und normale Ratten mit den gleichen Dosen (6 mg/Tier) Cortisone 6 Tage lang behandelt. Die Wachstumshemmung unter Cortisonebehandlung war bei den Normaltieren etwas ausgesprochener als bei den hypophysenlosen Tieren. Dies deutet darauf hin, daß Cortisone bei den hypophysenlosen Tieren, die bereits einen Wachstumsstillstand zeigen, nicht in gleicher Weise auf das Gesamtwachstum wirkt wie bei Normaltieren. Es scheint somit, daß die Hemmung des Allgemeinwachstums durch Cortisone in irgendeiner Weise mit dem Wachstumsvorgang, der durch die Hypophyse ausgelöst wird, in Zusammenhang steht. Die Hemmung der Entwicklung des Bindegewebegranuloms ist in beiden Gruppen etwa gleich. Dies kann so gedeutet werden, daß die Beeinträchtigung des Gesamtwachstums am Normaltier und am hypophysenlosen Tier und die Hemmung der Granulombildung durch Cortisone parallele Effekte darstellen, die jedoch in ihrem Wirkungsmechanismus nicht direkt identisch sind. Es ist aber auch möglich, daß die Entwicklungshemmung beim hypophysenlosen Tier und die Hemmung der Granulombildung einen hypophysenunabhängigen, gleichartigen Mechanismus darstellen, der der primäre Angriffspunkt des Cortisone ist. Dieser Mechanismus wird bei Anwesenheit der Hypophyse vor allem hinsichtlich des Tierwachstums modifiziert. Zwar kann diese Frage nicht als endgültig abgeklärt angesehen werden, doch sprechen die vorliegenden Befunde in der Richtung, daß ein hypophysenunabhängiger Mechanismus bei der Wirkung von Cortisone eine entscheidende Rolle spielt.

P. Desaulles, W. Schuler und R. Meier

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA-Aktiengesellschaft, Basel, den 19. Januar 1951.

Summary

Experiments have been carried out with the method already described to study the influence of Cortisone on development of foreign body granuloma. The formation of foreign body granuloma and its inhibition by Cortisone are independent of the influence of the hypophysis. It has been found that the granuloma develops in the same way in the hypophysectomized animal as in the normal one. Although in the hypophysectomized animal the inhibition produced by Cortisone is of identical type and degree, it could be concluded that most processes are independent of the influence of the hypophysis.

Über das Vorkommen der drei sogenannten « Hypophysenhinterlappenhormone » Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin im Zwischenhirn als wahrscheinlicher Ausdruck einer neurosekretorischen Leistung der Ganglienzellen der *Nuclei supraopticus* und *paraventricularis*

Durch die neueren Untersuchungen von Bargmann[1] und seiner Schule am hypothalamo-hypophysären System wurde im Anschluß an Scharrer[2] der Begriff der «neurosekretorischen Bahn» geprägt, die von den großzelligen Zwischenhirnkernen zur Neurohypophyse zieht und der Fortleitung einer granulären Substanz dient, die in den Ganglienzellen der *Nuclei supraopticus* und *paraventricularis* gebildet wird. Die neurosekretorische Bahn wird durch den *Tractus praeoptico-* bzw. *supraoptico-* und *paraventriculo-hypophyseus* repräsentiert und ist ein gemeinsames Gut sämtlicher Wirbeltiere. Das Neurosekret läßt sich durch die von Gomori angegebene Chromalaunhämatoxylin-Phloxinfärbung in Form von Granulis in den Ganglienzellen, den marklosen Ganglienzellfortsätzen und in den Nervenfasergeflechten der Neurohypophyse elektiv darstellen. Der Beweis für einen Sekrettransport in zentrifugaler Richtung über die Axone, d.h. über den *Tractus praeoptico-hypophyseus*, wurde neuerlich von Hild[3] auf experimentellem Wege (Hypophysenstieldurchtrennung) an Amphibien erbracht. Bargmann[1] sprach die Vermutung aus, daß das Neurosekret eventuell in enger Beziehung zum antidiuretischen Prinzip stehen könnte, angeregt durch die Befunde von Ranson[4] und Mitarbeitern, die durch die Läsion des *Tractus supraoptico-hypophyseus* experimentell einen *Diabetes insipidus* erzeugt hatten. Von Melville und Hare[5] wurde bereits 1945 im *Nucleus supraopticus* Adiuretin nachgewiesen, ferner wurde von Ortmann[6] sowie von Hild[3] und auch Kratzsch[7] auf ex-

[1] W. Bargmann, Z. Zellf. *34*, 610 (1949); Klin. Wschr. *27*, 617 (1949); – W. Bargmann und W. Hild, Acta anat. *8*, 264 (1949).

[2] E. Scharrer, Z. Anat. *106*, 169 (1937). – E. und B. Scharrer, Res. Publ. Assoc. Res. in Nervous and Mental Disease XX (Baltimore, 1940).

[3] W. Hild, Virchows Arch. *319*, 526 (1951).

[4] S. W. Ranson und H. W. Magoun, Erg. Pgysiol. *41*, *56* (1939).

[5] E. V. Melville und K. Hare, Endocrinology *36*, 332 (1945).

[6] R. Ortmann, Klin. Wschr. *28*, 449 (1950); Z. Zellf. (im Druck).

[7] E. Kratzsch, Z. Zellf. (im Druck).

perimentell-morphologischem Wege ein enger Zusammenhang zwischen färberisch darstellbarem Neurosekret («gomoripositive Substanz») und Adiuretin wahrscheinlich gemacht, indem durch Eingriffe in den Wasser- und Salzhaushalt der Versuchstiere quantitativ erfaßbare Schwankungen des Gehaltes der anatomischen Substrate an gomoripositiver Substanz durch Extinktionsmessung erfaßt wurden; im Durstversuch verminderte sich der Neurosekretgehalt in demselben Maße wie der Adiuretingehalt der Neurohypophyse unter denselben Bedingungen in den Versuchen von Hickey, Hare und Hare[1].

Nachdem somit ein enger Zusammenhang zwischen Adiuretin und gomoripositivem Neurosekret wahrscheinlich gemacht war, interessierte die Frage, ob sich dieser Wirkstoff außer aus der Neurohypophyse auch aus den gomoripositiv reagierenden *Nuclei supraopticus* und *paraventricularis* sowie aus dem *Tractus supraopticohypophyseus* gewinnen ließe. Zugleich prüften wir unsere Extrakte aus den gomoripositiven Zwischenhirngebieten auch auf ihren Gehalt an Vasopressin und Oxytocin.

Zur Extraktgewinnung wurden aus den Gehirnen frisch entbluteter Hunde die erwähnten Kerngebiete herauspräpariert und nach den Vorschriften der British Pharmacopoeia 1932 (Heller[2]) mit Aceton entwässert, im Vakuum getrocknet und im essigsauren Milieu extrahiert. Die biologische Wirkung der Extrakte wurde mit den gebräuchlichen pharmakologischen Methoden quantitativ erfaßt. Es zeigte sich dabei, daß aus den erwähnten Zwischenhirnkernen und aus der neurosekretorischen Bahn nicht allein Adiuretin, sondern auch Vasopressin und Oxytocin zu gewinnen sind.

In den Abbildungen bringen wir einige vorläufige Ergebnisse; die Abbildung 2 bringt gleichzeitig den Beweis, daß die uteruswirksame Substanz nicht Histamin sein kann, sondern Oxytocin sein muß. Das Vorhandensein der sogenannten Hinterlappenwirkstoffe im Zwischenhirn ist nach unseren Untersuchungen streng an die gomoripositiven Kerne und an die neurosekretorische Bahn geknüpft, da Extrakte aus der nächsten Umgebung der Kerne pharmakologisch unwirksam waren. So fanden wir zum Beispiel an Oxytocin bei 8 Hunden im Mittel: Hypophyse 5,2 VE, neurosekretorische Bahn (im *Tuber cinereum*) 0,16 VE, *Nucleus supraopticus* 0,28 VE und *Nucleus paraventricularis* 0,087 VE. Die bisherigen Adiuretinwerte aus den *Nuclei supraoptici* von 4 Hunden liegen im Mittel bei 0,312 VE. Dieselben Kerne enthielten im Mittel 0,37 VE Vasopressin.

Angesichts der Tatsache, daß die drei Wirkstoffe Adiuretin, Vasopressin und Oxytocin in ihrem Vorkommen engstens an das gomoripositive Neurosekret gebunden sind und da durch die Untersuchungen von Hild[3] eine Wanderung des Neurosekrets von den Zwischenhirnkernen zur Neurohypophyse bewiesen wurde, erscheint uns die Vorstellung diskutabel, daß die Bildungsstätte der Wirkstoffe nicht im Hypophysenhinterlappen, sondern in den großzelligen Zwischenhirnkernen zu suchen sei. Demnach wäre die Neurohypophyse lediglich Speicherungs- und Ausscheidungsorgan; diese Funktion der Neurohypophyse konnte von Hild[3] bezüglich des färberisch darstellbaren Neurosekrets bereits gesichert werden.

Für diese unsere Hypothese sprechen auch die Befunde von Trendelenburg und Sato[4], die bereits 1928 einen vermehrten Adiuretingehalt des Tubercinereum nach Hypophysenstieldurchtrennung fanden analog der Anstauung von gomoripositivem Neurosekret in den Faserstümpfen des *Tractus praeoptico-hypophyseus* nach Hypophysenstieldurchtrennung (Hild[1]).

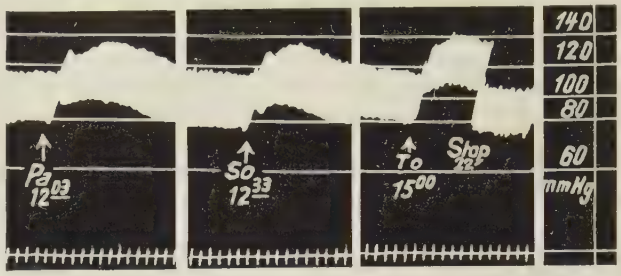


Abb. 1. Blutdrucksteigernde Wirkung der Extrakte aus *Nucleus paraventricularis* und *Nucleus supraopticus* in Gegenüberstellung zur Wirkung des Tonephins an der mit Urethan narkotisierten Katze (3 kg ♀). – *Pa:* Gesamtextrakt aus einem *Nucleus paraventricularis* = 1 cm³; *So:* Gesamtextrakt aus einem *Nucleus supraopticus* = 1 cm³. Beide Extrakte stammen von Hund 9. *To:* Tonephin 0,1 VE/kg.

Die Untersuchungsergebnisse von Geiling und Lewis[2], die aus Hypophysenhinterlappen-Gewebskulturen Vasopressin extrahierten, erscheinen uns als Beweis für die Bildung des Hormons im Hinterlappen nicht stichhaltig, da beim Ansetzen der Kultur gleichzeitig ein Hormondepot mit ausgepflanzt wurde, das unter den Kulturbedingungen erhalten bleiben mußte.

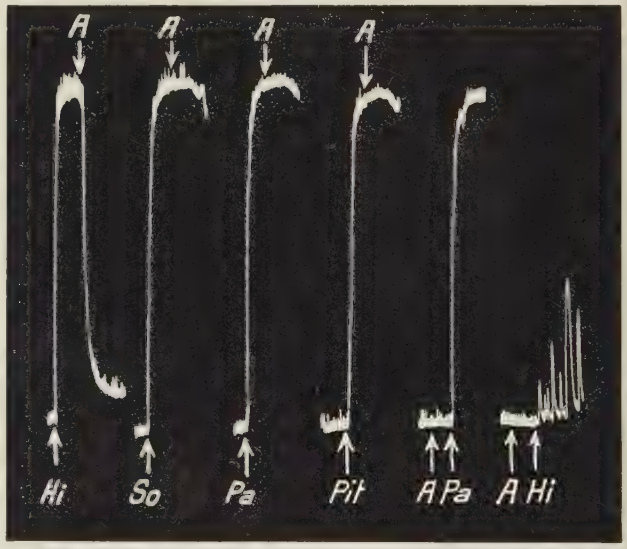


Abb. 2. Oxytocische Wirkung der Extrakte aus *Nucleus supraopticus* und *Nucleus paraventricularis* von Hund 12 am Uterus des virginellen Meerschweinchens. Badeflüssigkeit 40 cm³ Ringerlösung.– *Hi:* Histaminchlorhydrat 0,1 cm³ einer 0,001-mol.-(Base)-Lösung; *A:* Antistin 0,1 cm³ einer 0,001-mol.-(Base)-Lösung; *So:* Extrakt entsprechend dem 0,0125-ten Teil des *Nucleus supraopticus; Pa:* Extrakt entsprechend dem 0,0125-ten Teil des *Nucleus paraventricularis; Pit:* Pituglandol 0,003 VE.

Bezüglich der Funktion des färberisch darstellbaren gomoripositiven Neurosekrets fassen wir dieses nach den bisherigen Untersuchungen von Hild[3] als eine Träger-

[1] R. Hickey, Hare und Hare, Anat. Rec. *81*, 319 (1941).
[2] H. Heller, J. Physiol. *99*, 246 (1941).
[3] W. Hild, Virchows Arch. *319*, 526 (1951).
[4] P. Trendelenburg, Klin. Wschr. *7*, 1679 (1928). – G. Sato, Arch. Exp. Path. Pharmakol. *131*, 45 (1928).

[1] W. Hild, Virchows Arch. *319*, 526 (1951).
[2] E. M. K. Geiling und M. R. Lewis, Amer. J. Physiol. *113*, 534 (1935).
[3] W. Hild, Virchows Arch. *319*, 526 (1951); Z. Anat. und Entw.-gesch. *115*, 459 (1951).

substanz für die «Hinterlappenwirkstoffe» auf, ähnlich wie das Schilddrüsenkolloid die Trägersubstanz für das Schilddrüsenhormon ist. Histochemisch scheint es sich um ein Lipoprotein zu handeln (SCHIEBLER[1]).

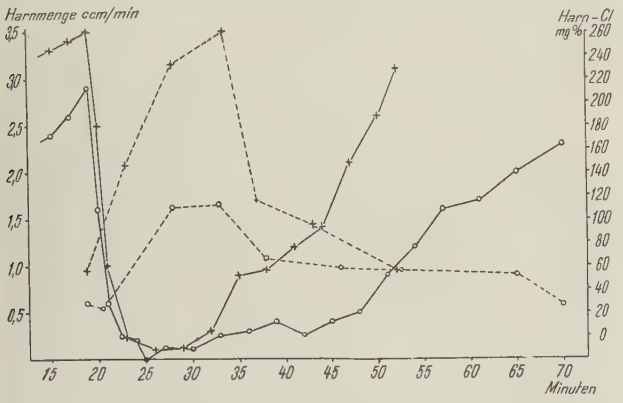


Abb. 3. Prüfung der antidiuretischen und harnkonzentrierenden Wirkung der Kernextrakte am Blasenfistelhund «Fiffi» (6,7 kg ♂). 2 Stunden vor Versuchsbeginn 100 cm³ Wasser per Schlundsonde, zum Versuch 300 cm³ Wasser. Bei einer Diurese von 2–3 cm³ Harn/min intravenöse Injektion der Extrakte in einer Dosis entsprechend dem $4{,}0 \cdot 10^{-5}$-ten Teil des jeweiligen Kerns.

— + ——— + —— Harnmenge cm³/min
-- + ---- + -- Chloridkonzentration mg% } *Nucleus supraopticus*

— 0 ——— 0 —— Harnmenge cm³/min
-- 0 --- 0 -- Chloridkonzentration mg% } *Nucleus paraventricularis*

Der exakte Beweis für unsere Anschauungen bleibt einer weiteren Untersuchung vorbehalten.

WALTHER HILD und GERHARD ZETLER

Anatomisches Institut der Universität Kiel, den 2. September 1950.

Summary

The nuclei supraopticus, paraventricularis and the tractus supraoptico-hypophyseus (tuber cinereum) of dogs were extracted by the method of the British Pharmacopoeia 1932, p. 618. These extracts have antidiuretic, oxytoxic and pressoric activity. This suggested the idea to the authors that these hormones could have their origin in these nuclei and not in the neural lobe of the hypophysis.

[1] TH. H. SCHIEBLER, Acta Anat. (im Druck).

Preliminary Researches on the Mechanism of the Antidiuretic Action of Enteramine

It has been previously[1] demonstrated that enteramine possesses a conspicuous antidiuretic action. Subsequently the mechanism of this action and its physiological importance were investigated.

The renal clearance experiments here presented are a first contribution to the solution of these problems, which we should approach from various angles.

This study has been carried out in the dog, i.e. in the trained, colpotomized, non-anesthetized animal (blood samples were drawn from the jugular vein, urine was collected by catheterization of the bladder followed by lavage and evacuation of the organ with distilled water and insufflated air), or in the pentobarbital-anesthetized dog (catheterization of the ureters).

[1] V. ERSPAMER and A. OTTOLENGHI, Exper. *6*, 428 (1950).

The glomerular filtration rate was measured by the thiosulphate clearance, the renal plasma flow by the p-aminohippuric acid (PAH) clearance × 1·15, according to PHILLIPS and coworkers[1].

Both test substances were parenterally administered (750 mg/kg thiosulphate i. v., and 75 mg/kg PAH s. c.), 30–45 minutes after a water load (50 cm³/kg of light, lukewarm tea, given by gastric tube) and 45 minutes before the withdrawal of blood 1.

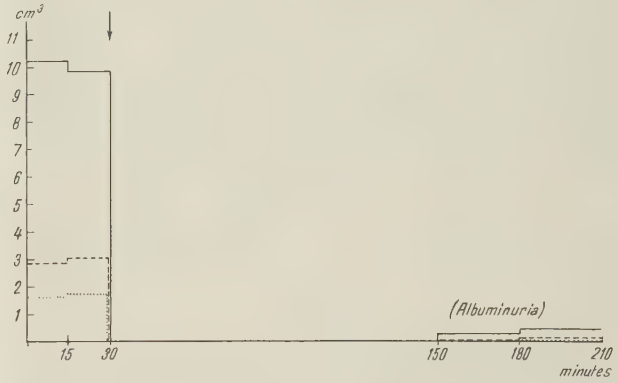


Fig. 1. – Colpotomized, non-anesthetized bitch, 14 kg. At the arrow, i. m. injection of the *Vulgaris* extract corresponding to 10 g fresh salivary tissue per kg body weight.

——— renal plasma flow cm³/min/kg.
– – – – glomerular filtration cm³/min/kg.
..... urine flow cm³/min/dog.

Results of two typical experiments are reproduced in figures 1 and 2. Hence, it becomes evident that the antidiuretic action of enteramine is essentially due to a reduction or an inhibition of the glomerular filtration.

Increased tubular reabsorption, supposing it exists, could, at the best, be only of secondary importance.

The lowering of the thiosulphate clearance (the inulin clearance shows a quite similar behaviour) is accompanied by a conspicuous reduction of the tubular excreation of PAH, that is a reduction of the renal blood flow. Such, however, seems to be of minor importance and, above all, to last for a shorter time than the former.

From the preceding observations, it follows that the main cause for the reduction of the glomerular filtration must be sought in a reduced intraglomerular blood pressure, which probably is due to a spasm of the contractile structures of the afferent side of the glomerular bed (interlobar and/or afferent glomerular arteries).

It is excluded that the lowering of the intraglomerular pressure simply represents a local manifestation of a systemic hypotension. Although it is highly probable that pure enteramine itself provokes a fall of the general pressure, this is not so with crude extracts of *Octopus vulgaris* which, on the contrary, nearly always exhibit an outspoken hypertensive action (due to the presence of octopamine and tyramine).

In some of our experiments in which the carotid pressure after the i.m. or s.c. injection of large quantities of enteraminic extracts has been continuously registered, an initial pressure rise of 60–100 mm Hg was appreciable, and a subsequent slow fall to the original levels, or even somewhat below, but never lower than 100–110 mm Hg.

A constriction of the efferent side of the glomerular bed accompanying the spasm of the afferent side can at present neither be admitted nor excluded. Instead, one may

[1] R. A. PHILLIPS, V. P. DOLE, P. B. HAMILTON, K. EMERSON Jr., R. M. ARCHIBALD, and D. D. VAN SLYKE, Amer. J. Physiol. *145*, 314, (1946).

reasonably deny a tonus increase of the efferent artery alone, because, although such an event could easily explain the reduction of the tubular excretion of PAH, as a consequence of the diminished blood supply of the tubulus, it could by no means explain the reduction of the glomerular filtration which, on the contrary, logically should be augmented by the increase of the intraglomerular pressure.

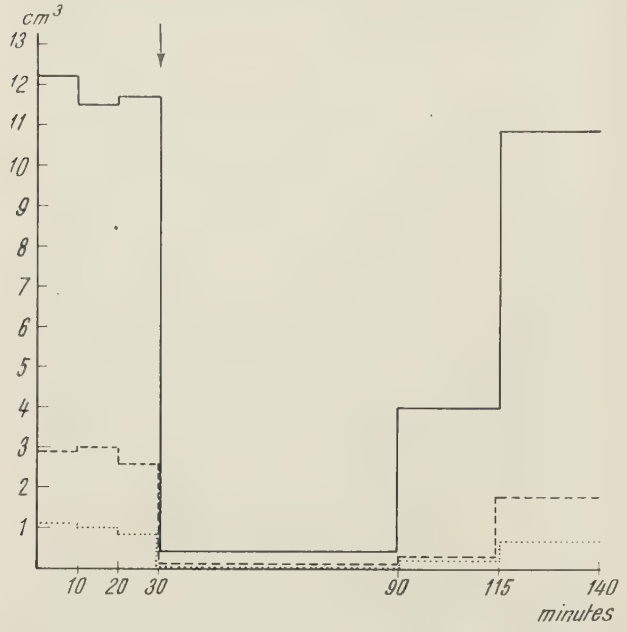


Fig. 2. – The same bitch as in figure 1, after a week. At the arrow, i. m. injection of the *Vulgaris* extract corresponding to 5 g fresh salivary tissue per kg body weight.

——— renal plasma flow cm³/min/kg.
– – – – glomerular filtration cm³/min/kg.
..... urine flow cm³/min/dog.

Noteworthy indirect evidence for the inhibition of the glomerular filtration caused by enteramine may also be obtained from studying the course of thiosulphatemia in the dog. More about this will be reported in a forthcoming publication. However, it is already quite clear from our preliminary experiments that, whereas thiosulphatemia uniformly and rather quickly decreases in the control dog, in the enteramine-treated animal the decrease after the injection of a *Vulgaris* extract is suddenly interrupted, giving way, for the duration of the renal inhibition, to an almost horizontal thiosulphatemia tracing.

Four and an half hour after the i. v. administration of thiosulphate one may, for instance, still observe thiosulphatemia values of 40–50 mg per cent in those animals which were given enteramine; comparatively, thiosulphatemia values of <10 mg per cent in the control animals.

The results here obtained with massive, surely extraphysiological doses of enteraminic extracts were largely confirmed by other experiments, carried out in the rat with a dosage of enteramine 100–200 times less than above.

This investigation, a full acount of which will be published elsewhere, was supported by a grant from the Italian Research Council.

V. Erspamer and A. Ottolenghi

Pharmacological Institute, University of Bari,
August 14, 1950.

Zusammenfassung

Durch *Clearance*-Experimente beim Hunde konnte bewiesen werden, daß die antidiuretische Wirkung von Enteramin ausschließlich oder hauptsächlich einer Drosselung der afferenten Gefäße des Glomerulus zuzuschreiben ist.

Adrenalin- und Arterenolgehalt der Mäuse- und Rattennebenniere

Die hormonale Zusammensetzung des Nebennierenmarks weist innerhalb der Tierreihe charakteristische artspezifische Unterschiede auf. Während das Markinkret der meisten untersuchten Tierarten – *Schwein*, *Rind*[1], *Katze*, *Hund*[2], *Frosch*[3] – und des *Menschen*[2] neben Adrenalin beträchtliche Mengen Arterenol (Nor-adrenalin) enthält – 20 bis 60% –, konnten wir[4] im Nebennierenmark von *Kaninchen* und *Meerschweinchen* nur Adrenalin nachweisen. Bei diesen beiden Tierarten ist vermutlich der für die Überführung der «Vorstufe» Arterenol in Adrenalin erforderliche *Methylierungsmechanismus* besonders wirksam. Daß andererseits das bei den meisten Tierarten im Nebennierenmark sich findende *Arterenol* hier nicht nur die Funktion des chemischen Intermediärproduktes zu erfüllen hat, sondern daneben auch die Funktion des selbständigen Wirkstoffs, wird dadurch wahrscheinlich, daß es unter der Einwirkung adäquater Reize (Druckentlastung des Carotissinus[5], Splanchnicusreizung[6]) zu einer Abgabe von Arterenol aus der Inkretdrüse kommt.

Mit biologischen Differenzierungsmethoden unter Verwendung des *Katzenblutdrucks*, *Rattenuterus* und *Kaninchendarmes* als Testobjekte finden wir, daß ähnlich wie bei den meisten Tierarten auch bei der *Maus* das Nebennierenmark ein Gemisch von Adrenalin und Arterenol enthält – ungefähr 75% Adrenalin, 25% Arterenol –, bei der *Ratte* hingegen nur Adrenalin. Die *Ratte* würde demnach zusammen mit *Meerschweinchen* und *Kaninchen* eine Tiergruppe bilden, in deren Nebennierenmark praktisch nur Adrenalin, kein Arterenol vorhanden ist.

Wir haben wiederholt die Vermutung geäußert, daß die *pharmakologischen* Befunde vielleicht einmal eine Parallele und Bestätigung auch im «*Morphologischen*» fänden, derart, daß der histologische Nachweis zweier verschiedener Zelltypen im Nebennierenmark der Tierarten, bei denen wir beide Wirkstoffe antreffen, gelänge: eines arterenol- und eines adrenalinbildenden Typs. Das scheint jetzt der Fall zu sein, da es Bänder[7] (am Pharmakologischen Institut in Marburg) ohne Kenntnis unserer Befunde offenbar gelungen ist, mit einer modifizierten Giemsafärbung im Nebennierenmark von *Katze*

[1] P. Holtz, K. Credner und G. Kroneberg, Naunyn-Schmiedebergs Arch. *204*, 228 (1944–47). – P. Holtz und H. J. Schümann, Naturwissenschaften *35*, 159, 191 (1948); Klin. Wschr. *26*, 605 (1948); Naunyn-Schmiedebergs Arch. *206*, 475 (1949). – U. v. Euler, Nature *163*, 642 (1949). – S. Bergström, U. S. v. Euler und U. Hamberg, Acta chem. scand. *3*, 305 (1949). – B. F. Tullar, Science *109*, 536 (1949).

[2] P. Holtz und H. J. Schümann, Naunyn-Schmiedebergs Arch. *210*, 1 (1950).

[3] H. J. Schümann, Unveröffentlichte Versuche.

[4] P. Holtz und H. J. Schümann, Nature *165*, 683 (1950); Arch. internat. Pharmacodyn. *83*, 417 (1950). – Siehe dagegen U. S. v. Euler; Exper. *5*, 451 (1949), sowie W. Schuler und P. Heinrich, Helv. Physiol. et Pharmacol. Acta *7*, 515 (1949).

[5] P. Holtz und H. J. Schümann, Naunyn-Schmiedebergs Arch. *206*, 49 (1949); *211*, 1 (1950).

[6] E. Bülbring und H. J. Burn, Brit. J. Pharmacol. *4*, 202 (1949). – J. H. Gaddum und F. Lembeck, Ebenda *4*, 401 (1949).

[7] A. Bänder, Persönliche Mitteilung.

und *Maus* zwei Zelltypen zu differenzieren, eine sich violett färbende, wahrscheinlich «inaktive» Form und eine sich blau färbende, wahrscheinlich «aktive» Form. Bei drei Tierarten jedoch findet er im chromaffinen Gewebe der Nebennieren nur einen einzigen, sich grün färbenden Zelltyp: bei *Ratte, Meerschweinchen* und *Kaninchen*.

P. Holtz und H. J. Schümann

Pharmakologisches Institut der Universität Rostock, den 2. September 1950.

Summary

The suprarenals of most animal-species – pig, cattle, dog, cat, frog and man – contain beside adrenaline more or less nor-adrenaline (arterenol): 20–60%. The suprarenals of rabbits and guinea-pigs behaved exceptionally in that they contained only adrenaline. Now it was found that rats also belong to the latter group, whereas the secretion of mice-suprarenals is a mixture of 75% adrenaline and 25% nor-adrenaline. These results are in agreement with the histological findings of Bänder, that for example in cat and mice suprarenals *two* different types of chromaffine cells are to be found, but only *one* chromaffine cell type in suprarenals of rabbits, guinea-pigs, and rats.

PRO LABORATORIO

Le «Séparateur de germes»

Les micromanipulateurs, appareils parfaits dans leur principe, sont d'une manipulation délicate, et l'isolement, grâce à eux, d'une seule bactérie exige souvent un temps assez prolongé.

J'ai pensé qu'il était possible de réaliser d'une autre façon la séparation à l'état de cellules isolées des microbes en se basant sur un autre principe.

Si, en effet, on transforme en aérosol une émulsion bactérienne, les microbes se trouvent entraînés mécaniquement avec les gouttelettes du brouillard, un seul germe se trouvant dans une seule gouttelette du fait de leurs dimensions respectives. Chaque gouttelette de brouillard projetée sur un milieu de culture favorable pourra donner naissance à une colonie isolée. Les expériences suivantes le prouvent.

a) Appareillage et manipulation. Nous nous servons d'un appareil producteur d'aérosols, muni d'un entonnoir, relié par un tube de caoutchouc ou soudé à l'orifice de sortie du brouillard. L'ensemble de l'appareil est conçu de telle sorte qu'il se pose facilement et que l'opérateur a les mains libres.

On place stérilement dans le fond de l'appareil, stérilisé lui-même, l'émulsion bactérienne avec laquelle on désire expérimenter. On envoie, grâce à une poire, de l'air qui est filtré à travers un coton placé dans la tubulure d'introduction. L'aérosol, instantanément formé, est projeté sur un milieu de culture favorable. Deux ou trois secondes de fonctionnement suffisent pour obtenir un résultat (fig. 1).

b) Colonies isolées obtenues à partir d'une émulsion d'une seule espèce bactérienne. Transformée en aérosol, une émulsion bactérienne donne des colonies parfaitement isolées, dont le nombre et l'espacement sont liés essentiellement au temps de marche de l'appareil.

c) La preuve de la séparation parfaite des éléments cellulaires après usage du «Séparateur de germes» a été apportée par le Docteur Fleury de la Station fédérale d'essais viticoles à Lausanne. Cet auteur, en effet, a projeté sur une grande lame de verre (genre plaque photographique) une émulsion de levures. La lame fut ensuite colorée et l'examen microscopique de *tous* les éléments projetés sur la lame montra qu'ils étaient tous séparés, un pour cent seulement se trouvant côte à côte.

d) Colonies isolées obtenues à partir d'une émulsion de plusieurs espèces bactériennes. Mélangeons dans une seule émulsion des germes différents (exemple: E. coli, Bacille pyocyanique, Staphylocoque, B. mesentericus). Transformée en aérosol et projetée sur un milieu convenable, cette émulsion donne naissance à des colonies parfaitement isolées, dont *chacune* correspond à *une* espèce bactérienne.

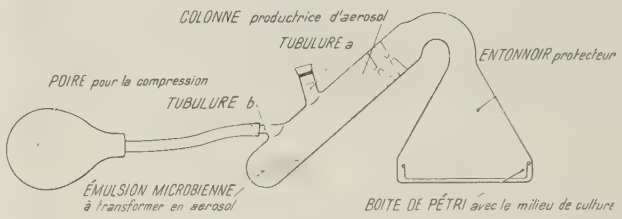


Fig. 1.

L'appareil utilisé mérite donc bien le nom de «Séparateur de germes» que nous lui avons donné, et permet un isolement sûr, rapide et très simple de microbes à partir d'un mélange.

e) Influence de la densité des émulsions. La totalité des germes contenus dans l'émulsion ne passe pas dans les gouttelettes de l'aérosol: une très faible partie seulement est projetée à l'extérieur. Les appareils dont nous nous sommes servis débitent environ 1/500e de centimètre cube par seconde sous une pression de 500 grammes. Prenant une émulsion contenant 4 milliards de germes au centimètre cube, on devrait donc sortir théoriquement de l'appareil, après 3 secondes de marche, environ 24 millions de germes. On obtient en réalité 300 à 500 colonies, ce qui correspond à une émulsion contenant environ 80 à 100 000 germes au centimètre cube. Il se fait par ailleurs une concentration considérable des germes dans l'émulsion. Un seul exemple: une émulsion contenant 4 milliards de germes par centimètre cube au début de l'expérience, en contient 37 milliards après vingt minutes de marche.

En résumé, le «Séparateur de germes», convenablement manié, permet d'obtenir, à partir de cultures ou d'émulsions contenant un ou plusieurs microbes différents, des colonies parfaitement isolées, *nées de cellules uniques.* Cette technique nouvelle peut, dans bien des cas, remplacer du fait de sa simplicité de manœuvre et de la rapidité de son fonctionnement, les micromanipulateurs.

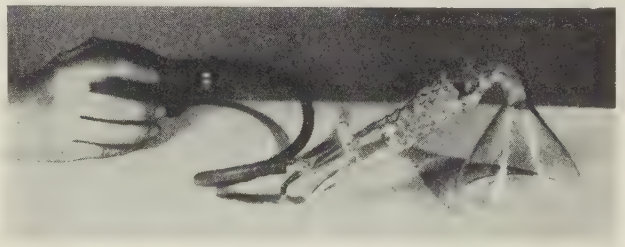


Fig. 2.

Le «Séparateur de germes» a de nombreuses applications pratiques. Il permet, par exemple, de purifier des cultures polluées et de retrouver facilement le germe original. On peut l'utiliser dans l'analyse des produits

pathologiques. Grâce à lui – et à lui seul – nous avons pu effectuer des recherches sur la streptomycino-résistance et, par exemple, isoler les unes des autres une centaine de cellules et déterminer *pour chacune d'elles*, leur sensibilité à la streptomycine. Ce qui nous a permis de mettre en évidence leur «non-homogénéité» et la «grossièreté» des résultats habituels d'étude «en masse».

Toujours, grâce au même appareillage, nous avons pu étudier les descendants des cellules uniques et constater ici encore leur manque d'homogénéité dans leur tolérance à l'antibiotique.

Je crois que de nombreuses autres applications de séparateur de germes sont possibles. Grâce à lui, il semble que l'on va pouvoir aborder d'une façon nouvelle nombre de problèmes de bactériologie, et analyser les qualités de germes pris véritablement un à un et non pas, comme on l'a fait jusqu'à maintenant, étudier à la fois les millions ou les milliards d'êtres qui sont réunis dans une seule colonie microbienne.

Paul Hauduroy

Institut d'Hygiène et de Bactériologie de la Faculté de Médecine, Université de Lausanne, et Faculté de Médecine de l'Université de Paris, le 15 novembre 1951.

Summary

The microbe emulsions are transformed into aerosols and projected on to a solid culture medium, which permits of obtaining isolated colonies, regardless of the variety of germs contained in the first culture. Each of these colonies contains only one variety of germs. The author describes an apparatus which allows this result to be obtained.

"Le séparateur de germes" makes easy the quantities of researches on the isolated cells taken in a microbe colony.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Handbuch der Gletscherkunde und Glazialgeologie

Von Rudolf von Klebelsberg

Band 1: *Allgemeiner Teil*, 403 Seiten mit 55 Abbildungen, 1948 (Fr. 72.–)

Band 2: *Historisch-regionaler Teil*, 621 Seiten mit 38 Abbildungen und 1 Tafel, 1949 (Fr. 102.–)

(Springer-Verlag, Wien)

Der Verfasser, Vorsteher des geologischen Institutes der Universität Innsbruck, bleibt der Tiroler glaziologischen Tradition treu, wenn er der Wissenschaft als Frucht einer reichen Lebensarbeit dieses imponierende Werk schenkt. Er war als universeller Geist, weitgereister Forscher und Herausgeber der Zeitschrift für Gletscherkunde wie kein Zweiter berufen, eine zusammenfassende Darstellung dieses weitschichtigen, von der speziellen Glaziologie, Geographie und Geologie bearbeiteten Forschungsgebietes zu vermitteln, das seit dem Erscheinen der Gletscherkunde von Hess (1904) bedeutende Aufhellungen erfahren hat. Da die mannigfaltigen Erscheinungen im Bereiche rezenter und ehemaliger Vereisungen miteinander in innigem genetischem Zusammenhange stehen und die Deutung des Vergletscherungsphänomens als Ganzes nur durch eine universelle raumzeitliche Betrachtung möglich ist, umfaßt das Handbuch nicht nur die Glaziologie wie das neuere Werk der Geographen von Drygalksi-Machatschek, beschränkt sich aber auch nicht lediglich auf die quartäre Eiszeit, wie das bekannte Opus von W. B. Wright, sondern vermittelt das gesamte heutige Wissen über die Gletscher und ihre Wirkungen in Vorzeit und Gegenwart.

Nach einem historischen Überblick bringt der erste Band in einem ersten Hauptkapitel eine einläßliche Gletscherkunde. Der zweite Hauptabschnitt, die Glazialgeologie, behandelt zunächst die unmittelbaren (Moränen, Pseudomoränen, Leitgeschiebe, Geschiebeanalyse, Oser, Kames, Sander) und mittelbaren glazigenen Ablagerungen; bei letzteren spricht er im Gegensatz zum bisherigen Sprachgebrauch mit Recht nicht mehr von fluvioglazialen, sondern von glazifluvialen Schottern. Der Abschnitt über die glaziale Erosion und ihre Formen beweist die Vertrautheit mit den Grundfragen der Geomorphologie und zeichnet sich daher durch eine sichere Beurteilung des Wesens der Glazialformen aus, abgesehen vielleicht von Einzelheiten (Stufenmündungen!). Den Beschluß des Bandes bilden Ausführungen über sonstige glaziale und glazial beeinflußte Bildungen, wie Rinnentäler, Gletschertöpfe, Bergstürze, glaziale Seen, Sölle, dann über glaziale Krustenbewegungen und Meeresspiegelschwankungen.

Im historisch-regionalen, zweiten Band wird nach einleitenden Betrachtungen über die gegenwärtige und pleistozäne Vereisung ausführlich die quartäre Vergletscherung der verschiedenen Erdräume besprochen. In diesem Rahmen kommt auch ausführlich die Vergletscherung der Alpen und des Vorlandes zur Sprache. Der Verfasser schließt sich mit Recht der von Eberl und Knauer vertretenen Auffassung an, daß Würm I dem innern Moränenkranz («Zürichstadium») gleichzusetzen ist und erst darauf der maximale Vorstoß erfolgte (Würm II); eine Rekurrenzphase zwischen diesen beiden Phasen ist nicht zu erweisen. Auch die Rückzugsphasen werden kritisch beleuchtet; gegenüber der «Schlußvereisung» verhält sich von Klebelsberg skeptisch. Endlich werden die vorquartären Vergletscherungen behandelt (tertiäre Spuren, mesozoische, jung- und altpaläozoische und eozoische Vereisungen). Das Kapitel «Zur Frage nach den Ursachen der Vergletscherungen» dokumentiert den ungenügenden Stand unserer heutigen Kenntnisse. Die Strahlungskurve ist lediglich als zusätzlicher Faktor und Zeitskala zur Gliederung des Eiszeitalters zu werten.

Das durch gute Abbildungen, tabellarische Übersichten und umfassende Literaturangaben ergänzte Werk zeichnet sich durch seine Klarheit und die wohlabgewogenen Urteile aus und darf als Markstein in der Forschungsgeschichte bezeichnet werden. Dem Verlag gebührt für die sorgfältige Gestaltung in schwieriger Zeit der Dank der Wissenschaft.

H. Annaheim

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

The Valence-State Energy of the Tetravalent Carbon Atom

By L. H. Long[1], Exeter, England

1. *Introduction*

The purpose of this article is to examine the structure of a few simple organic molecules from the energetic aspect, particular reference being made to the question of the energy of the valence state of tetravalent carbon and its derivation from known thermochemical data. A systematic treatment of this problem from the thermochemical point of view seems never to have been undertaken, perhaps because the true situation has for long been obscured by uncertainty regarding the values to be assigned to a number of thermochemically important quantities, and partly because the type of reasoning involved is one not normally encountered in thermochemistry. The present paper does not claim to be more than a step towards the solution of this problem, but certain conclusions which it is possible to draw from observational data may prove of value in checking physical theories.

In conformity with the wave-mechanical picture of the chemical bond, the true or natural energy of a bond may be regarded as a specific property of the bond *in the unperturbed molecule*, like, for example, the bond length or the stretching force constant. This energy we will term, after R. S. Mulliken, the *intrinsic bond energy*. It is the energy liberated when two atoms *in their appropriate valence states* unite to form a bond. The valence state of an atom in combination may be defined as the hypothetical state in which the free atom would find itself if its chemical bonds could be ruptured without change in the electronic configuration. In as much as the resultant electronic configuration is not that of the ground state, atoms in their valence states possess surplus energy, that is they are *excited*. The fundamental situation is not in the least affected by the fact that valence states are not spectroscopically observable with the free atoms. For theoretical treatment it is frequently convenient to regard valence states as mixtures of observed atomic states.

In order to avoid confusion, it is necessary from the outset to be clear about the fact that *intrinsic* bond energies are not the same as the bond energies ordinarily spoken of. The latter are thermochemically defined so as to make the sum of the bond energies of a molecule equal to the atomic heat of formation of the molecule, that is, the heat liberated on its formation from free atoms in their ground states. Since the atomic heat of formation is also equal to the sum of the intrinsic bond energies *less* the sum of the energy of the valence states of all the atoms involved, that is, to

$$\Sigma E - \Sigma V$$

(where E represents the intrinsic energy of a bond and V the internal energy of an atom in its valence state), it is seen that the intrinsic bond energies are in general *larger* than thermochemical bond energies. The *inter-atomic* energy is thus larger than commonly supposed, but the increase is compensated for by a loss in *intra-atomic* energy. Logically, it is the intrinsic bond energy rather than the thermochemical bond energy which is related to other bond properties such as the bond length and force constant[1], and it is the intrinsic bond energy which concerns us here.

Turning our attention to diatomic molecules, it is seen that with the rupture of the bond joining the atoms, the latter are able to fall to their ground states. Consequently, for a molecule AB, the measured dissociation energy, $D(\mathrm{AB})$, is a net effect only, and does not provide the value of $E(\mathrm{A-B})$, the intrinsic energy of the bond. The actual relationship is given by

$$D(\mathrm{AB}) = E(\mathrm{A-B}) - V(\mathrm{A}) - V(\mathrm{B}).$$

Since the intra-atomic energy is entirely regained during the process of dissociation, the dissociation energies alone tell us nothing concerning the valence states of the atoms in the case of diatomic molecules.

With polyatomic molecules, however, the situation is different. Here, with the rupture of an electron-pair bond between two atoms, one at least of the two atoms is obliged to remain in the appropriate valence state, since it remains chemically linked with other atoms. In principle, therefore, it is possible to gain information regarding valence states from the dissociation energies of *polyatomic* molecules, provided the experimental data is correctly interpreted. The position is however rendered more complicated by the fact that, when one bond in a molecule is ruptured, the neighbouring bonds are inevitably affected, even if only slightly. It is thus in general necessary to make allowance for a number of small energetic effects, and this, with our present state of knowledge, tends to become the most difficult and least satisfactory aspect of the matter. It constitutes a major factor in determining the accuracy of estimations of this kind, and a strong reason for confining attention to simple polyatomic molecules.

Our knowledge of dissociation energies for polyatomic molecules is still in an exceedingly incomplete state, and much information which would be very useful in throwing light on the positions of valence states is unfortunately still lacking. However, enough data for certain organic compounds exist to provide at least an intelligent idea of the energy level of the valence state of carbon from several different lines of reasoning. Before proceeding to illustrate this with examples, it would be both useful and instructive to make a brief historical survey of the viewpoints which have been held concerning the true nature of the valence state.

2. *Past Ideas concerning the Nature of the Valence State*

It appears first to have been recognized 20 years ago by Mecke[2] that the energy required to promote a carbon atom to its tetravalent state must affect the bond energies in organic compounds. Using values then current for dissociation energies, he argued that because the process

[1] Washington Singer Laboratories, University College of the South-West of England, Exeter, England.

[1] For a perfect treatment of intrinsic bond energies, it would be necessary to separate out the much smaller forces between non-bonded atoms. For interrelating bond properties, however, it is very questionable whether this would be worth while, since not only will these forces affect the energies of neighbouring bonds somewhat, but also their lengths and force constants in comparable manner.

[2] R. Mecke, Nature *125*, 526 (1930).

$$HCO \rightarrow CO + H$$

liberates 4 kcal instead of absorbing 107 kcal in conformity with the process

$$H_2CO \rightarrow HCO + H,$$

the excitation of the C=O molecule to =C=O (containing tetravalent carbon) absorbs 111 kcal. A like argument involving D(OC=O) provided a similar figure. Mecke also forecast that the energy required to rupture the second C–H bond in methane would be much less than that required to rupture the first[1], on the grounds that in methylene, free CH_2, the carbon is divalent.

These ideas were developed on the physical side by Heitler and Rumer[2] and on the chemical by Norrish[3], who recognized that the ^3P state of carbon is an s^2p^2 state, and possesses only two unpaired electrons for bond-formation, whereas for carbon to appear tetravalent one of the s electrons must be promoted to the vacant p orbital to give an sp^3 state. The lowest atomic state answering this description is the ^5S state, and the employment of this state instead of the ground state as the basis of the respective calculations constituted a definite advance. At the time, the position of the ^5S state was generally believed to be nearer to the ground state than is now known to be the case.

Of the various subsequent theoretical treatments of polyatomic molecules, those by Van Vleck[4] (to whom the term *valence state* is due) and by Mulliken[5], who extended the treatment to a large number of atoms other than carbon, deserve special mention. In the Van Vleck treatment, the importance of electron spin and bond direction is emphasized. According to this viewpoint, the correct reference state for carbon in methane is not the ^5S state alone, but a mixture of all the sp^3 states (six in number), since, apart from the fact that the ^5S atom does not direct its four valence electrons tetrahedrally, the spins of the latter are all parallel, a restriction which is not to be presumed operative in chemically bound carbon. In this treatment, the spins are instead presumed to be symmetric. A corresponding linear combination of all the six sp^3 states leads to a promotional energy of 7–8 eV for the carbon atom in its valence state. The result is surprisingly high when it is remembered, for example, that the ionization potential of carbon is only 11·265 eV and that, experimentally, the energy of the C–H bond is of the order of 4 eV.

A revision of Van Vleck's treatment has been undertaken by Voge[6], who attempted to remove certain imperfections by employing a different combination of s^2p^2, sp^3, and p^4 atomic terms. This again yielded the value 7 eV for the valence state in methane, but the question of a possible reduction through resonance was raised. However, it is doubtful if the level could be depressed appreciably in this way. Apart from the evidence which has been accumulating in recent years against resonance of this kind, Coulson[7] has calculated that delocalization of the bonding electrons in methane is very small.

In order to suggest a possible explanation for the difficulty created by the theoretical value 7 eV—it is quite twice as large as that permissible according to observational data[1]—it might be remarked here that, energetically speaking, once a carbon atom has become excited to the ^5S state by the promotion of an s electron to a p orbital (to make the formation of four electron-pair bonds possible), further excitation is only to be expected as long as the gain in intrinsic bond energy more than compensates for the energy absorbed by excitation. This is in accordance with the inviolable principle that a molecule will adjust itself so as to make its total energy a minimum. It need not be surprising, therefore, if this point is reached a long way below that demanded by the symmetric electron-spin configuration. A treatment which subordinated energetic considerations to those of electron spin and bond direction, important as these are, could thus never be perfect. This fact has apparently been recognized by Nordheim-Pöschl[2], who, in a completely different theoretical approach to simple organic molecules, excludes at the outset all states higher than the 5_S as energetically too high to play a significant rôle in chemical bonding, and attempts to account for the directional properties of the tetravalent carbon atom in terms of a combination of the ^3P and ^5S states. No estimate of the energy of the valence state is given, but, in view of what follows, it would be well worth investigating whether this kind of treatment could be developed to give a picture conformable to experiment.

During the decade following 1936, the matter was not carried much further. One of the main reasons for this was doubtless the insufficiency of reliable experimental data by means of which physicists could check and build upon their theories. The question of the valence state of carbon was re-examined in 1946 from the experimental angle by Long and Norrish[3], who found that the evidence pointed unequivocally to an energy level of ~65 kcal (~2·8 eV). This it was impossible to link up with the 7 eV provided by the Van Vleck-Voge treatment, but was in reasonable agreement with the estimate ~3·16 eV for the then unobserved ^5S level by Ufford[4]. The experimental facts accordingly pointed at the time to the older viewpoint, according to which the valence state was identified with the ^5S state, as being the correct one. However, the subsequent observation of the ^5S level at 4·16 eV or 96·4 kcal by Shenstone[5] showed Ufford's estimate to be misleading. The true position thus turns out to be less simple than was formerly supposed, and it is now possible to state with some confidence that the valence state of tetravalent carbon is situated not above the ^5S level, but *below*[6] it. The recognition of this fact is a step forward towards placing the whole subject on an energetically sound footing, and should be of assistance to the theoretical physicist.

One other completely different approach must be mentioned which has particular reference to diatomic molecules. It has long been recognized that linear Birge-Sponer extrapolations—which depend upon the molecular constants at the potential minimum—lead to dis-

[1] R. Mecke, Z. Elektrochem. *36*, 595 (1930).
[2] W. Heitler and G. Rumer, Z. Physik *68*, 12 (1931).
[3] R. G. W. Norrish, Trans. Faraday Soc. *30*, 103 (1934).
[4] J. H. Van Vleck, J. Chem. Phys. *2*, 20, 297 (1934). – J. H. Van Vleck and A. Sherman, Rev. Modern Phys. *7*, 167 (1935).
[5] R. S. Mulliken, J. Chem. Phys. *2*, 782 (1934).
[6] H. H. Voge, J. Chem. Phys. *4*, 581 (1936); *16*, 984 (1948).
[7] C. A. Coulson, Quart. Rev. Chem. Soc. *1*, 165 (1947).

[1] That the figure 7 eV is much too high, may be readily seen from a consideration of acetylene and its halogen derivatives. The ground state of these molecules is unquestionably X—C≡C—X, but this would be stable relative to X—C—C—X only as long as the difference in the bond-energy sum for the two structures exceeded the sum of the promotional energies of the two carbon atoms. A figure even approaching 7 eV for each atom is accordingly seen to be excluded. See L. H. Long, Z. Elektrochem. *54*, 79 ff. (1950).
[2] G. Nordheim-Pöschl, Ann. Physik [v], *26*, 258, 281 (1936).
[3] L. H. Long and R. G. W. Norrish, Proc. Roy. Soc. A *187*, 337 (1946).
[4] C. W. Ufford, Phys. Rev. [ii], *53*, 568 (1938).
[5] A. G. Shenstone, Phys. Rev. [ii], *72*, 411 (1947).
[6] L. H. Long, Z. Elektrochem. *54*, 77 (1950).

sociation energies which are normally considerably in excess of the true value. PAULING[1] has made the reasonable assumption that the extrapolated values correspond to the energies required to dissociate the respective molecules into atoms *in the valence states* relevant to the molecule under consideration. (In the language employed in the introduction, this is tantamount to saying that the extrapolated value for the dissociation energy constitutes an estimate of the intrinsic bond energy of the molecule.) An alternative procedure is to carry out a linear extrapolation of the *lowest* vibrational levels (zero lines). The two methods normally give similar, but not identical, values. As the assumptions involved hold to a first approximation only, the accuracy of the figures obtained for the valence states will again be somewhat limited. This line of approach has not so far been applied to tetravalent carbon, but has been employed for estimating the level of the divalent state and the levels of the valence states of oxygen and nitrogen[2].

3. *Valence States and Dissociation Energies*

The significance of the intra-atomic energies possessed by atoms when in their valence states is well illustrated by a study of the experimental values for the dissociation energies of individual chemical bonds in the case of *polyatomic* molecules. These dissociation energies reflect the necessity for taking the intra-atomic energies into account when estimating true or intrinsic bond energies, as is particularly well illustrated in the case of C–H and C–C bonds.

It will be convenient in the following to represent the energy of a valence state by the symbol V. Thus $V(C^{IV})$ represents the energy of a carbon atom in its tetravalent state. To be strictly accurate, the type of hybridization should be indicated, as, for example, in the symbol $V(sp^3\ C^{IV})$, since slight differences in energy will exist, according to whether the hybridization is sp^3 (tetrahedral), as in CH_4 and CCl_4, or sp^2 (trigonal) as in C_2H_4 and C_6H_6, or sp (digonal) as in C_2H_2 and CO_2. Theoretically, at least, the difference in energy levels for these hybridized states is quite small. Experimentally, it is doubtful whether it is yet possible to distinguish between them.

The heat of atomization of graphite will here be taken as 125·0 kcal at 0°K. This is an accurate figure derived from a spectroscopic study of carbon monoxide, and a study of the evidence from other sources indicates that it is the most probable value[3]. In any case, the correct value is almost certainly within about 10 kcal of this figure[4]. The heat of atomization of hydrogen is known with accuracy to be 51·6 kcal at 0° K. The valence state and the ground state of hydrogen will here be assumed to be virtually the same. There are here no low-lying atomic states which one would expect to contribute to the bonding and a Birge-Sponer extrapolation calculated from the molecular constants ω_e and $\omega_e x_e$ for H_2 indicates that the difference between the states in question is negligible. On account of the non-linearity of the $\Delta G - v$ curve for H_2, however, extrapolation of the lowest vibrational levels leads to a definite, though relatively small, valence energy. The point is worthy of mention, as the discrepancy between the two extrapolation procedures is indicative of their limited reliability.

From a far-reaching regularity in the accurately known heats of formation of the straight-chained paraffins at 0° K[1], it can be demonstrated that the energy of the C–C bonds is constant to within 0·1 kcal. The C–H bond varies only comparatively slightly in strength, that in methane being slightly stronger than the average values for the higher paraffins. The values for the intrinsic bond energies (E values) are given below (in kcal) for the C–H bond in methane and the C–C bond in ethane:

$$E(CH_3 - H) = 86{\cdot}85 + \tfrac{1}{4}\,V(C^{IV});$$
$$D(CH_3 - H) = 101{\cdot}5 \pm 1.$$

$$E(CH_3 - CH_3) = 59{\cdot}9 + \tfrac{1}{2}\,V(C^{IV});$$
$$D(CH_3 - CH_3) = 84{\cdot}3 \pm 2.$$

The experimental dissociation energies[2] of the corresponding bonds at 0° K (D values) are placed alongside for comparison. For aliphatic hydrocarbons, other measured dissociation energies are similar, namely about 100 kcal for D(C–H) and about 80 kcal for D(C–C). It is immediately obvious that the energy of the valence state of carbon must be considerable if the figures are to bear relationship. If, *as a first approximation*, one equates the D values with the intrinsic bond energies, the values derived for $V(C^{IV})$ are 58·6 and 48·8 kcal respectively. The matter is not so simple, however, as this procedure neglects the *energy of reorganization* of the methyl radical on its formation from methane or ethane.

The factors entering into this energy of reorganization are change in energy of the three unruptured C–H bonds and change in the internal energy of the carbon atom. The latter will at all events be small, even if the hybridization changes all the way from sp^3 to sp^2, and will be associated with a small but not negligible increase in the energy of the three remaining bonds due to increase in their s character. That energy will be liberated but will not be more than a few kilocalories, is indicated by the fact that the C–H bond in ethylene, where the bonding is sp^2, has properties which differ only slightly from those of the C–H bond in methane. A study of bond properties by WALSH[3], namely bond energies, bond lengths and force constants, has indicated that the C–H bond in ethylene is the stronger by only about 2 kcal. It follows that the above estimate for the valence states, although only approximate, will be of the right order of magnitude. In point of fact, the C–H bond in the free methyl radical may well be intermediate in character between those in methane and ethylene.

Any liberation of energy through reorganization of the methyl radicals on their formation would mean that the observed dissociation energies are lower than the actual intrinsic bond energies. Consequently the figures 58·6 and 48·8 kcal already derived represent lower limits for the valence energy of tetravalent carbon. (The

[1] L. PAULING, Z. Naturforsch. *3a*, 438 (1948).

[2] L. PAULING, Proc. Nat. Acad. Sci., U.S. *35*, 229 (1949). – L. PAULING and W. F. SHEEHAN (Jr.), *ibid.*, p. 359.

[3] L. H. LONG, Proc. Roy. Soc. A *198*, 62 (1949).

[4] A much higher value around 170 kcal has frequently been proposed, but there is no objection-free evidence in support of it, and the weight of the evidence indicates that it can be excluded. From independent considerations, PAULING and SHEEHAN (*loc. cit.*) also exclude this value. That PAULING and SHEEHAN favour a value somewhat higher than 125 kcal is due to their assumption that the carbon in the ground state of CN and the lowest triplet state of CO is in the divalent (and not tetravalent) state. See later and L. H. LONG, Research, London *3*, 291 (1950).

[1] E. J. PROSEN, K. S. PITZER, and F. D. ROSSINI, J. Research National Bur. Standards, U. S. *34*, 403 (1945).

[2] The figure for $D(CH_3—H)$ is that given by G. B. KISTIAKOWSKY and E. R. VAN ARTSDALEN, J. Chem. Phys. *12*, 469 (1944), after correcting for an improved value of D(HBr) involved in the calculation [cf. L. H. LONG, Proc. Roy. Soc. A *198*, 65 (1949)]. The figure for $D(CH_3—CH_3)$ follows from this.

[3] A. D. WALSH, e. g., J. Chem. Soc., *1948*, p. 398; Discussions Faraday Soc. *2*, 18 (1947). The bonding in free CH_3 is specifically considered on p. 21 of the latter article.

difference in the figures implies that the energy of reorganization is 2·45 kcal greater when it is formed from ethane than when it is formed from methane. This can be readily accounted for when it is reflected that the C–H bond energy in methane is 0·8 kcal stronger than in ethane, as may be shown directly from the heats of formation of these two compounds.)

Having now a lower limit for the energy of the valence state, an upper limit must be sought. This is provided by the position of a triplet state of ethylene which has been experimentally fixed at 72–74 kcal above the ground state by Lewis and Kasha[1], who also identify this triplet state with the symmetrical biradical

$$-CH_2-CH_2-$$

obtained by removing two hydrogen atoms from ethane. If, in first approximation, it is assumed that the intrinsic energies of the bonds it contains are identical with those in the ethane molecule, it can be shown that the sum of the intrinsic energies of the two bonds of the ethane molecule which are regarded as ruptured on the production of the biradical is related to the forementioned experimental figure, 73 ± 1 kcal, by an algebraic sum involving only the heats of formation of ethane and ethylene and the dissociation energy of the hydrogen molecule, all of which are accurately known. The details of this calculation are given elsewhere[2], and will not be repeated here. The procedure leads to 70·2 kcal as an estimate for $V(C^{IV})$, the valence energy of carbon.

Again the method is only approximate. In particular, the assumption that all the bonds in the biradical $-CH_2-CH_2-$ are identical with the corresponding bonds in ethane neglects the possibly important mutually repulsive effect of the two unpaired electrons. Such would considerably weaken the C–C link, thus destabilizing the biradical and reducing the estimate of $V(C^{IV})$. That this factor is indeed important and exceeds any stabilizing effects due to reorganization of the biradical, is indicated by the fact that the energy required for the process

$$C_2H_5 \rightarrow -CH_2-CH_2- + H,$$

namely 109 kcal, is several kilocalories more than the value for $D(C_2H_5-H)$, namely 98 kcal. The value of $V(C^{IV})$ provided by this procedure, namely 70·2 kcal, may thus be regarded as an upper limit for the energy of the valence state.

The true value may therefore be supposed to lie somewhere between 58·6 and 70·2 kcal. Other calculations of this sort based on experimental dissociation energies provide very similar values. All suffer from the necessity of making approximating assumptions at some point or other, and it is not at present possible to express the energy of the valence state with greater precision. It is to be noted that these estimates are all linked with the heat of atomization of graphite in such a way that any increase in the value of the latter involves a corresponding decrease in the energy of the valence state, that is to say, the heat of atomization of graphite to free atoms in the tetravalent state remains constant at ~190 kcal per gram-atom, whatever the true value for the heat of atomization to atoms in their ground state.

4. *Change in Valency*

The foregoing examples are confined to cases in which no changes of valency are involved. On the rupture of a double bond, the additional possibility of change in valency must be considered, if by pairing off the two odd electrons one (or both) of the atoms is able to reduce its valency by two. This article would not be complete without the discussion of at least one such case. Carbon dioxide provides a convenient example.

The energy required to dissociate one of the bonds in carbon dioxide can be very accurately calculated from the difference in the heats of formation of carbon dioxide and carbon monoxide at 0° K. The value thus obtained for $D(O=CO)$ is 125·35 kcal. This figure is very much less than the intrinsic energy of the bond because of the valence energy of the oxygen atom, which is of the order of 0·74 eV or 17 kcal[1], and the energy of reorganization of the CO radical on passing to the ground state of carbon monoxide. Two factors contribute to make the latter quantity very considerable, namely marked increase in strength of the unruptured C=O bond, as witnessed by the decrease in length and increase in force constant, and a drop in the internal energy of the carbon atom as it passes from the tetravalent to the divalent state, there being no question that the $^1\Sigma$ ground state of carbon monoxide contains no unpaired electrons. The intrinsic energy of the C=O bond in carbon dioxide is therefore

$$125{\cdot}35 + V(O^{II}) + \Delta E + V(C^{IV}) - V(C^{II}),$$

where ΔE represents the difference in intrinsic bond energy of the C=O bond in carbon dioxide and carbon monoxide. Since the atomic heat of formation of carbon dioxide is 336·1 kcal, the intrinsic bond energy is also equal to

$$\tfrac{1}{2}(336{\cdot}1) + \frac{1}{2}V(C^{IV}) + V(O^{II}),$$

so that, by equating the two expressions and substituting the experimental value 1·73 eV or 40 kcal for $V(C^{II})$[2],

$$\tfrac{1}{2}V(C^{IV}) = 82{\cdot}7 \text{ kcal} - \Delta E. \qquad (1)$$

In order to determine the value of ΔE, a knowledge of the intrinsic bond energies in CO and CO_2 is required. That in CO can be calculated by adding the forementioned valence energies for divalent carbon and oxygen to the dissociation energy of CO, namely 9·14 eV. The result 11·61 eV, is in only fair agreement with the value obtained by Pauling and Sheehan[3] by extrapolation of the lower vibrational levels of CO, namely 11·23 eV, which is likewise an approximate figure. [The value adopted for $D(CO)$ is not quite certain, but had one of the alternative higher values been selected, the discrepancy in the two estimates of the intrinsic bond energy would have been markedly greater.] The best we can do is to take the mean of the two figures, namely 11·42 eV or 263 kcal.

The intrinsic bond energy in CO_2 can be estimated by considering the dissociation energy of one of the bonds for a process in which the carbon remained in the tetravalent state. The unruptured bond in the >C=O radical would simultaneously readjust itself with the appearance of the two unpaired electrons, and the final result (with maintenance of tetravalence for the carbon) would be a carbon monoxide molecule not in the Σ ground state, but in an excite Π state. The lowest of these is the $a\,^3\Pi$ state, which answers the description perfectly. In this case, increase in the bond length and decrease in the force constant indicate a considerable decrease in strength of the unruptured C=O link.

[1] G. N. Lewis and M. Kasha, J. Amer. Chem. Soc. *66*, 2100 (1944).

[2] L. H. Long, Z. Elektrochem. *54*, 79 (1950).

[1] L. Pauling, Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. *35*, 229 (1949).

[2] L. Pauling and W. F. Sheehan (Jr.), Proc. Nat. Acad. Sci., U. S. *35*, 359 (1949).

[3] L. Pauling and W. F. Sheehan, *loc. cit.*

The excitation energy of the $a\ ^3\Pi$ state being accurately known from spectroscopic data, the energy required for the process

$$CO_2 \rightarrow O(^3P) + CO(a\ ^3\Pi)$$

can be calculated thermochemically to be 264 kcal. The extrapolation procedure of PAULING and SHEEHAN indicates an intrinsic bond energy of 146 kcal for the $a^3\Pi$ state of CO, so that $(146 - x)$ kcal must here be allowed for the reorganization energy of the CO radical, where x is the intrinsic energy of the C=O bond in carbon dioxide. Accordingly, since the dissociation energy will differ from the intrinsic energy by an amount equal to the change in internal energy of the fragments,

$$264 = x - V(O^{II}) - (146 - x),$$

from which equation, after substitution of the previously mentioned value 17 kcal for $V(O^{II})$, x is seen to be 213·5 kcal. This value for the intrinsic bond energy in CO_2 is perfectly reasonable from the point of view of bond properties. It is seen to be 49·5 kcal less than that in the ground state of carbon monoxide. This provides the figure for ΔE required in equation (1), from which $V(C^{IV})$ is seen to be approximately 66 kcal, in good agreement with the previous estimates.

Alternatively, $V(C^{IV})$ can be estimated directly from the intrinsic bond energy in CO_2, for which we have derived the approximate figure 213·5 kcal. This is numerically equivalent to one-half the atomic heat of formation of CO_2 plus the valence energy of oxygen plus one-half the valence energy of carbon, that is, to $(\frac{1}{2} \times 336{\cdot}1) + 17 + \frac{1}{2}V(C^{IV})$. This procedure provides the figure 57 kcal for $V(C^{IV})$.

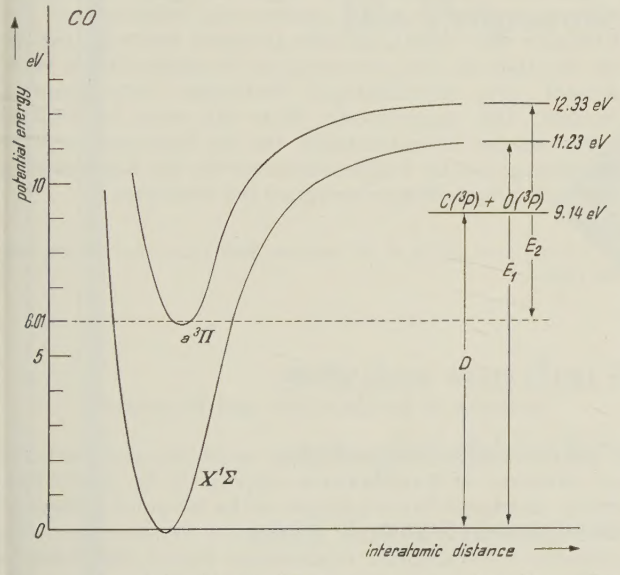


Fig. 1. – Extrapolated potential-energy curves (schematic) of the ground state and lowest excited state of CO. The dissociation limits are linear convergences of the lowest few vibrational terms. These curves differ from those usually given. For low vibrational energy, they will coincide with the observed curves, but near the dissociation limits will deviate considerably from the "true" curves (which are not in any case observable in this region), as interaction with discrete atomic terms of the dissocation products is intentionally neglected. The dissociation limits obtained in this way do not correspond to combinations of atomic terms, but to combinations of atoms in hypothetical valence states. The method provides direct—though approximate— estimates of the *intrinsic* bond energies for the ground states of the molecule, which energies are here indicated as E_1 and E_2 respectively. The energy level of the separated atoms in their ground states, that is, the dissociation energy, D, is here shown at 9·14 eV. These quantities are related to the valence energies as follows:

$$E_1 - D \approx V(C^{II}) + V(O^{II});$$
$$E_2 + 6{\cdot}01\ \text{eV} - D \approx V(C^{IV}) + V(O^{II}).$$

Yet another method of estimating $V(C^{IV})$ is by means of linear extrapolations of the lower vibrational levels of the $X^1\Sigma$ and $a^3\Pi$ states of CO. If, as there is good reason to believe, these are respectively derived from divalent (s^2p^2) and tetravalent (sp^3) carbon, the latter state should give a linear convergence at a point some distance above that of the former. This is in fact observed, (see fig. 1), the values being 11·23 and 12·33 eV respectively above the ground level[1]. The difference, 1·10 eV, gives the difference in level between the tetravalent state and the divalent state. Taking the level of the latter as 1·73 eV[1], that of the former becomes 2·83 eV or 65 kcal.

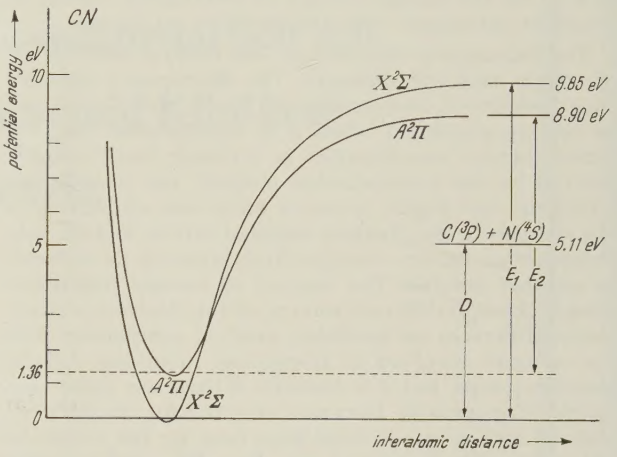


Fig. 2. – Extrapolated potential-energy curves (schematic) of the ground state and lowest excited state of CN. The extrapolations are of the same type as those for the states of CO in figure 1. The energy level of the separated atoms in their ground states is here shown at 5·11 eV[3]. (The origin of the $A^2\Pi$ state is the revised level given by Herzberg and Phillips[4].) The extrapolated curves cross, and in this instance—in contrast to the case of CO—it is the ground state which is derived from tetravalent carbon and the excited state from divalent carbon. E_1 and E_2 are the respective intrinsic bond energies of the two states, and are related with the valence energies as follows:

$$E_1 - D \approx V(C^{IV}) + V(N^{III});$$
$$E_2 + 1{\cdot}36\ \text{eV} - D \approx V(C^{II}) + V(N^{III}).$$

The reasonable agreement between the various estimates is further confirmation that the carbon in the $a\ ^3\Pi$ state of CO is indeed tetravalent. This fact has an important bearing on the selection of the correct value for D(CO). On deducting the respective valence energies from the points of linear convergence of the $X\ ^1\Sigma$ and $a\ ^3\Pi$ states, both states agree in indicating a value for D(CO) in the neighbourhood of 8·8 eV. This gives better support to the spectroscopic value 9·144 eV than to the electron-impact value 9·6 eV or any higher figure; that is to say, it indicates that the heat of atomization of carbon is 125·0 kcal rather than 136 kcal or more. These conclusions confirm those derived from independent data elsewhere[2]. It is not however claimed that these deductions based on extrapolation procedures are sufficiently conclusive to exclude the electron-impact figure for D(CO). Apart from the approximate nature of the method, it has not yet been tried out in a sufficient number of cases for judgment to be passed concerning its general reliability. For the moment, attention should be paid to its indicative value.

[1] L. PAULING and W. F. SHEEHAN, *loc. cit.*
[2] L. H. LONG, Proc. Roy. Soc. A *198*, 62 (1949).
[3] L. H. LONG, Research, London *3*, 291 (1950).
[4] G. HERZBERG and J. G. PHILLIPS, Astrophys. J. *108*, 163 (1948).

The case of CN is also very instructive. It has long been known that the excited $A\ ^2\Pi$ state extrapolates to a convergence limit which is appreciably below that of the ground state, a rather unusual state of affairs which has evoked comment from other investigators. The extrapolated curves therefore cross (see fig. 2). This is however exactly what would be expected if the carbon in the ground $X\ ^2\Sigma$ state is tetravalent, but divalent in the upper state. This interpretation is supported by the interatomic distances and chemical behaviour of CN[1]. The ground state extrapolates to 9·85 eV. Deducting 5·11 eV for the dissociation energy of CN[2] and 1·84 eV for the valence energy of nitrogen[3] yields 2·90 eV or 67 kcal for the valence energy of tetravalent carbon, in excellent agreement with the previous estimates.

The estimates in this section, like those in the last, are of course only approximate. The discrepancy between the respective figures, namely 66, 57, 65, and 67 kcal, can be readily explained when it is remembered that the latter contain uncertainties in intrinsic bond energies derived by the extrapolation method, and that values which are not highly accurate have been employed for the energies of the divalent states of carbon and oxygen. Transferring valence energies from molecule to molecule in general involves the neglect of energy differences arising through different mixing of the electron orbitals. Such differences are probably small in comparison with the energies involved in transitions involving definite electron jumps, but it is doubtful if they are quite negligible. For example, the value adopted for the divalent state of carbon was derived from data for the molecules CH and C_2. The bonding is in neither case identical with that in CO and CN, and the possibility that the internal energy of the carbon differs in the four cases by perhaps several tenths of an electron-volt cannot be excluded. These are some of the difficulties which will have to be faced in a perfect treatment.

5. *Concluding Remarks*

The foregoing discussion illustrates the importance of valence states when considered in relation to bond properties and the energetic aspect of molecular structure in general. The various lines of reasoning which have been brought forward for the example of tetravalent carbon agree in pointing to an energy level for the valence state which is some 60–70 kcal above the ground state, and it would not be possible to select a value far outside these limits without coming into conflict with experimental evidence. From the experimental side, the accuracy of the derivation of valence states from dissociation energies will improve with increasing knowledge regarding the energies of reorganization of molecular fragments. From the theoretical side, brave attempts have already been made by a number of physicists to grapple with this difficult problem, and it is to be hoped that a reliable method for calculating valence energies will eventually become available.

It is to be noted that dissociation energies can be employed to estimate heats of atomization of elements only with a knowledge concerning the relevant valence states. Failure to recognize this has led to erroneous conclusions in the past. For example, it has on more than one occasion been suggested in print that the value of $D(CH_3-H)$ supports the high value 170 kcal for the heat of atomization of graphite, which value is incompatible with other data. Similar arguments applied to experimental values for $D(HO-H)$ and $D(NH_2-H)$ would indicate heats of atomization for oxygen and nitrogen which are in excess of the true values, since the valence energies of these elements are considerable.

In the case of carbon, the energy required to promote an *s* electron for the purpose of chemical bonding is seen to be of a similar order to, but less than, the promotional energy of an *s* electron in the free atom. If reasonable values are to be assumed for intrinsic bond energies, the same seems to hold for other like cases, as for the instance of N^+ in the ammonium ion. Further examples are provided by the elements in groups II, III, and IV which stand four, five or six places before a rare gas. Thermochemical data for the volatile alkyls of a number of these elements[1] indicate that the promotional energy of an *s* electron for the combined atom lies in each case between 60 and 100% of that for the free atom.

Zusammenfassung

Die Theorie von Valenzzuständen wird im Zusammenhang mit wahren oder «intrinsischen» (als verschieden von thermochemischen) Bindungsenergien diskutiert.

Mit den augenblicklich zur Verfügung stehenden Kenntnissen können nur annähernde Schätzungen der Energien der Valenzzustände gemacht werden. Dies ist für das Beispiel von vierwertigem Kohlenstoff mit einer Anzahl von unabhängigen Methoden unternommen worden. Der angedeutete Wert ist etwa 60–70 kcal höher als der Grundzustand. Da der Valenzzustand in Beziehung mit der Sublimationswärme des Kohlenstoffs steht, liefert er Belege bezüglich des letzteren.

[1] For more details, see L. H. Long, Research, London, *3*, 291 (1950).

[2] L. H. Long, *loc. cit.*

[3] L. Pauling and W. F. Sheehan, *loc. cit.*

[1] L. H. Long and R. G. W. Norrish, Phil. Trans. Roy. Soc. A, *241*, 587 (1949).

Nota

Archives of Biochemistry and Biophysics)

In view of the ever-increasing use of physical methods in problems of biochemistry—especially in borderline fields, Academic Press announces the intended widening of the scope of its journal, *Archives of Biochemistry*.—In addition to established biochemical topics, the Editors will consider manuscripts in the fields of virus research, radiation effects on living matter, macromolecular biology and chemistry, studies of the application of radioactive indicators, and physics of biological systems.

Beginning with Volume XXXI, Number 1, March 1951, the title of *Archives of Biochemistry* will be changed to *Archives of Biochemistry and Biophysics* to indicate more accurately the new scope of the journal. The Editorial Board has also been enlarged; Drs. E. Newton Harvey, E. C. Pollard, and R. W. G. Wyckoff have accepted an invitation to serve.

Unsere medizinischen Spezialpräparate werden von unserer Forschungsabteilung in enger Zusammenarbeit mit führenden Instituten und Kliniken entwickelt.

Die Präparate unter der Marke

CILAG

werden von den Aerzten wegen ihrer stets gleichbleibenden hohen Qualität und Zuverlässigkeit allgemein geschätzt.

CILAG AKTIENGESELLSCHAFT SCHAFFHAUSEN

Demnächst erscheinen

in zweiter, erweiterter Auflage

ARTHUR LINDER

Professor für mathematische Statistik an der Universität Genf
und an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

STATISTISCHE METHODEN

FÜR NATURWISSENSCHAFTER, MEDIZINER UND INGENIEURE

236 Seiten mit 43 Figuren, in Ganzleinen Fr. 30.–

«Das vorliegende Buch stellt eine Einführung dar, welche jedoch dem Leserkreis, an den es sich wendet, alle erforderlichen Hilfsmittel bietet, um sich erfolgreich auf seinem Gebiet statistischer Methoden bedienen zu können. Die ausgezeichnete und klare Darstellung wird durch eine große Anzahl von Beispielen wirksam unterstützt. Alles in allem ein Buch, das seinem Zweck vollkommen gerecht wird und wie mir scheint, eine im deutschen Sprachgebiet empfindliche Lücke schließt. Die zahlreichen Figuren und die hervorragende Ausstattung erhöhen den Wert des Werkes.» (*Monatshefte für Mathematik, Wien*)

ERNST GÄUMANN

Direktor des Institutes für spezielle Botanik an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich

PFLANZLICHE INFEKTIONSLEHRE

LEHRBUCH DER ALLGEMEINEN PFLANZENPATHOLOGIE FÜR
BIOLOGEN, LANDWIRTE, FÖRSTER UND PFLANZENZÜCHTER

681 Seiten mit 467 Abbildungen. – In Ganzleinen Fr. 44.50

«Unter souveräner Beherrschung der weitschichtigen Materie ordnet Gäumann unsere Kenntnisse über die Vorbedingungen und Kräfte, die während und nach dem Befall einer Pflanze durch ein pathogones Agens ins Spiel treten, analysiert sie und vergleicht die Vorgänge in der Pflanze mit denjenigen, die im kranken Menschen- und Tierkörper ablaufen. Er deckt Homologien und Verschiedenheiten auf und baut die Elemente zusammen zu einer Synthese, einer Infektionslehre, wie sie nun vor uns liegt, überzeugend in der Deutung der Tatsachen, übersichtlich und klar in der Darstellung.»

OTTO JAAG, «Neue Zürcher Zeitung»

«The importance of Prof. Gäumann's «Pflanzliche Infektionslehre» resides largely in the fact that it is the first serious attempt to develop the necessary theory. It is essentially a treatise on the theoretical foundations of plant pathology and it marks a long and decisive step towards the establishment of plant pathology as a science.» WILLIAM B. BRIERLY, «The Annals of Applied Biology»

Bezug durch jede Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL